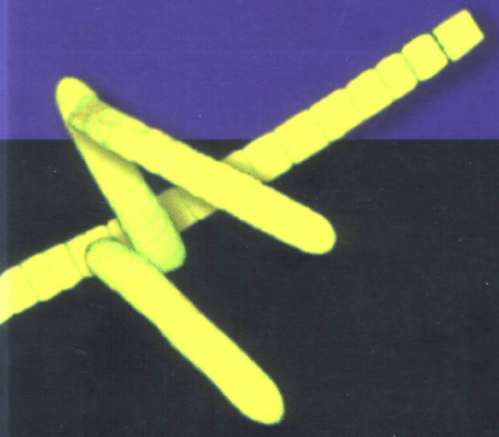
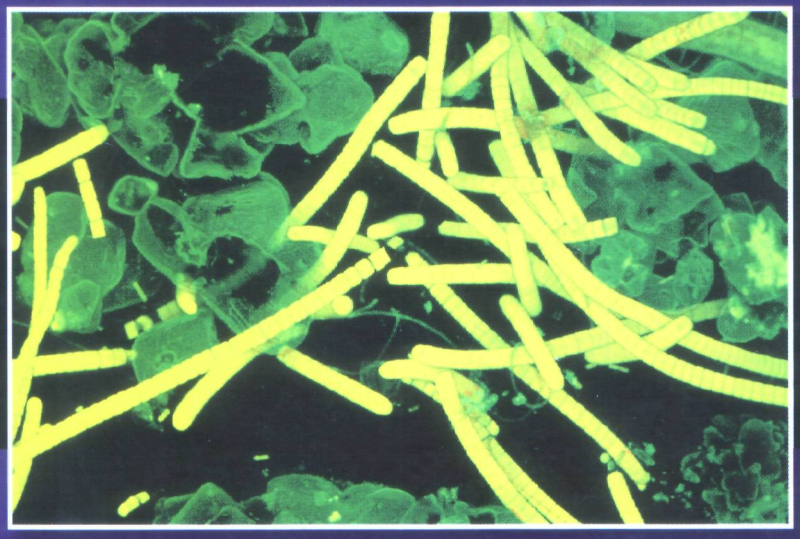
ONBİRİNCİ BASKIDAN ÇEVİRİ

BROCK MİKROORGANİZMALARIN BİYOLOJİSİ

MICHAEL T. MADIGAN





JOHN M. MARTINKO

Çeviri Editörü
Prof.Dr. CUMHUR ÇÖKMÜŞ

PALME YAYINCILIK

MADIGAN
MARTINKO

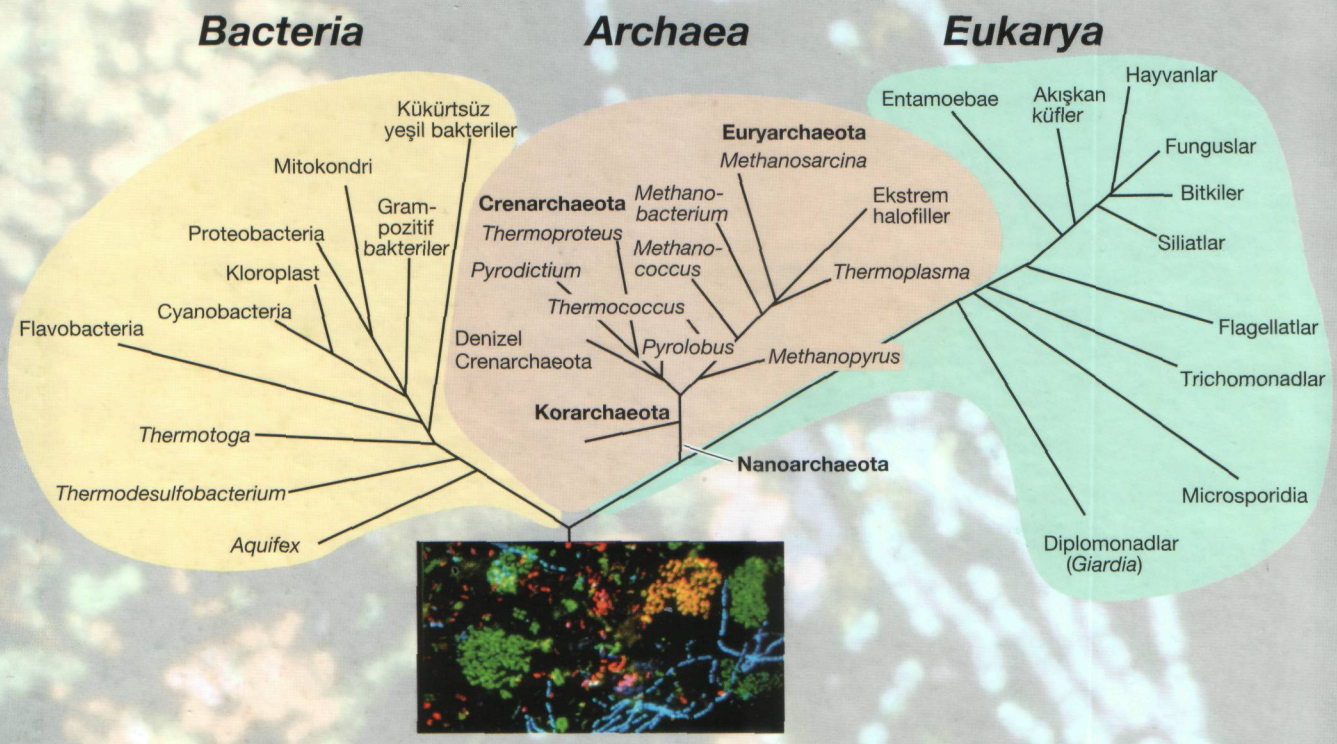
BROCK MİKROORGANİZMALARIN BİYOLOJİSİ

CUMHUR
ÇÖKMÜŞ

ONBİRİNCİ
BASKIDAN
ÇEVİRİ

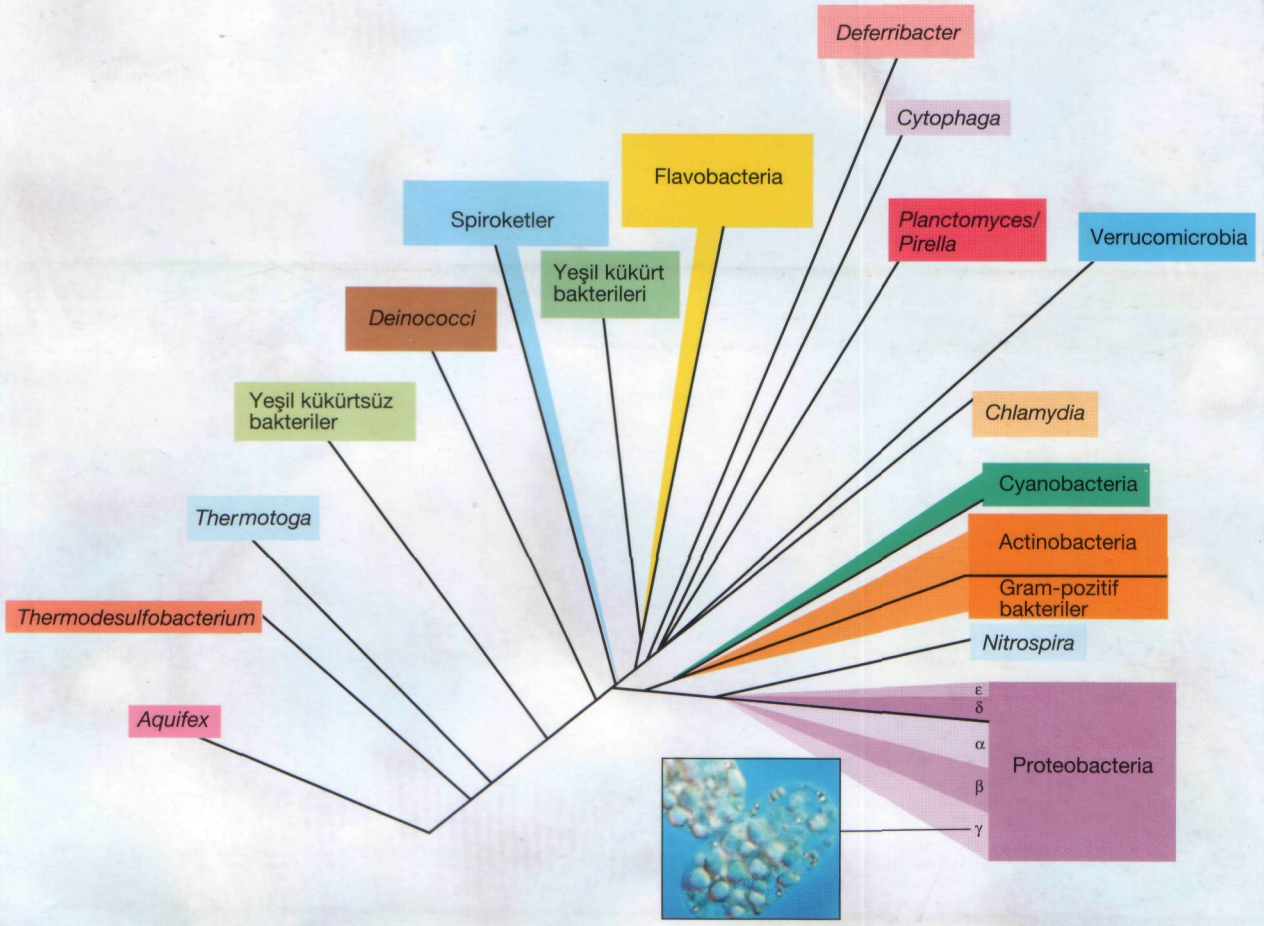
PALME
YAYINCILIK

CANLI DÜNYASININ FİLOGENİSİ–GENEL



EVRENSEL FİLOGENETİK AĞAÇ. Bu ağaç 16S veya 18S ribozomal RNA dizilerinin karşılaştırılmasından elde edilmiştir. Buna göre üç büyük canlı domaini mevcuttur. *Bacteria, Archaea* ve *Eukarya*. İki canlı grubu arasındaki evrimsel uzaklık, dalın ucu ve iki grubu birleştiren nokta arasındaki toplam mesafeyle orantılıdır. Ribozomal RNA'ya dayalı filogenilerle ilgili daha fazla bilgi için Bölüm 11.5-11.9'a bakınız. Bu ağaçta tanımlanan filogenetik ilişkiler çeşitli genotipik ve fenotipik ilişkilerle de desteklenmiştir. *Ağaçla ilgili veriler Ribosomal Databese projesinden alınmıştır.* **http://rdp.cme.msu.edu.**

CANLI DÜNYASININ FİLOGENİSİ–*BACTERIA*



BAKTERİLERE AİT FİLOGENETİK AĞAÇ. Bu ağaç 16S ribozomal RNA dizilerinden elde edilmiştir. Görüldüğü gibi, en az 17 adet büyük bakteri grubu tanımlanabilmektedir. Ribozomal RNA'ya dayalı filogenilerle ilgili daha fazla bilgi için Bölüm 11.5–11.9'a bakınız. *Ağaçla ilgili veriler Ribozomal Database Projesinden alınmıştır.* **http://rdp.cme.msu.edu**

BROCK

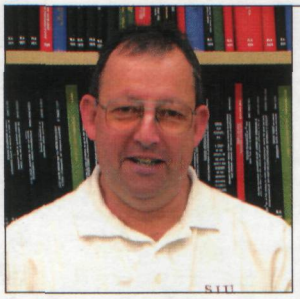
MİKROORGANİZMALARIN BİYOLOJİSİ

MICHAEL T. MADIGAN bu kitabı aşağıdaki resimde birlikte olduğu iki eski arkadaşına ithaf etmektedir: Willie (solda) ve Plum (sağda). Geçtiğimiz 11 yıl boyunca bu mükemmel hayvanlar bana, ancak bir köpek-sevenin anlayabileceği huzuru ve arkadaşlığı vermişlerdir. Willie, her zaman olduğu gibi, tatlı bir köpek örneğidir. Bunun tersine Pum (16 Nisan 2004'de ölmüştür) araba mezarlığı köpeğidir. Aslında, Plum altın bir kalbe sahipti ve insanları severdi ve beni gördüğünde heyecanlanmadığından yollarımız hiçbir zaman kesişmedi. Huzur içinde uyu dostum.

JOHN M. MARTINKO bu kitabı mevcut ve geçmişteki öğrencilerine ithaf etmektedir. En iyi öğrenciler, yeni bakış açılarından kaynaklanan ve öğretimin dışında bana ilham kaynağı olan problemleri devamlı olarak ortaya koyarlar, bunlar da bilgi birikimimi genişletir ve kavrama gücümü arttırır. Ders vermekten zevk duyduğum herkese beni eğittikleri, için teşekkür ederim.

YAZARLAR HAKKINDA

MICHAEL T. MADIGAN lisans derecesini biyoloji ve eğitim alanında 1971 yılında Stevens Point'deki Wisconsin State Üniversitesin'den, Yüksek Lisans (M.S) ve doktara (Ph.D) dercelerini sırasıyla 1974 ve 1976 yıllarında Wisconsin Üniversitesi, Madison, Bakteriyoloji Bölümünden almıştır. Yazarın lisansüstü çalışması Thomas D. Brock danışmanlığı altında yapılmış olup kaplıcalardaki fototrofik bakterilerle ilgili idi. İndiana Üniversitesi Mikrobiyoloji Bölümünde Howard Gest ile fototrofik bakteriler üzerinde 3 yıllık doktora sonrası araştırma yaptıktan sonra, yazar Southern Illinois Üniversitesi Carbondale'e geçerek Mikrobiyoloji Profesörü olmuştur. M. T. Madigan, dördüncü baskısından (1984) itibaren *Biology of Microorganisms* kitabının yazarlarından birisi olmuş olup mikrobiyolojiye giriş, bakteriyal çeşitlilik ve tanısal ve uygulamalı mikrobiyoloji derslerini vermektedir. 1988 yılında College of Science'da başarılı eğitici ve 1993 yılında da başarılı araştırıcı olarak seçilmiştir. 2001 yılında üniversitenin Başarılı Bursiyer Ödülünü almıştır. 2003 yılında Amerikan Mikrobiyoloji Derneğinden Üstün Lisans Eğitimi Carski Ödülünü almıştır. Yazarın araştırması neredeyse tamamen anoksijenik fototrafik bakteriler, özellikle de ekstrem çevrelerdeki türlerle ilgilidir. Yazar 100'ün üstünde araştırma makalesi yayınlamış, fototrofik bakteriler üzerine önemli bir bilimsel incelemenin düzeltmesinde yer almış ve *Archives of Microbiology* dergisinin editör ve baş editörü olarak görev yapmıştır. Okuma, yürüyüş, ağaç dikme ve köpek ve at bakma, yazarın bilimsel olmayan ilgi alanlarıdır. Yazar, SIU kampüsüne yaklaşık beş mil uzuklukta bulunan sakin bir gölün yanında eşi Nancy, iki köpeği Willie ve Pupagano ve atları Springer ve Feivel ile birlikte yaşar.



JOHN M. MARTINKO lisans derecesini Biyoloji alanında Cleveland State Üniversitesinde aldı. Lisans öğrencisi iken eğitim programına katılarak değişik mikrobiyoloji ve immünoloji laboratuvarları konusunda deneyim kazanmıştır. Yazar daha sonra laboratuvar yöneticisi olarak Case Western Reserve Üniversitesinde iki yıl çalışmış ve *Streptococcus pyogenes*'in yapısı, serolojisi ve epidemiyolojisi üzerine araştırmalar yürütmüştür. Yazar, Yüksek Lisansını (M.A.) ve Doktorasını (Ph. D) Mikrobiyoloji alanında antikor özgüllüğü ve antikor idiyotipleri üzerine Buffalo'daki New York State Üniversitesinde yapmıştır. Yazar doktora sonrası bursiyer olarak, New York'daki Albert Einstein Tıp Kolejinde önemli doku uyum kompleks proteinleri üzerinde çalışmıştır. 1981 yılından beri Southern Illinois Üniversitesi Carbondale Mikrobiyoloji Bölümünde Doçent ve Başkan olarak görev yapmaktadır. Büyüme hormonunun immün yanıta etkileri, soya kahverengi gövde çürüklüğü hastalığının immünodiyagnostik testlerin geliştirilmesi ve peptit-önemli doku uyum protein komplekslerinin işlevini değiştiren yapısal mutasyonların araştırılması, yazarın araştırma konularındandır. İmmünoloji ile ilgili lisans ve lisansüstü dersler okutmaktadır. J.M. Martinko aynı zamanda genel mikrobiyoloji dersinde immünoloji, konukçu yanıtı ve bulaşıcı hastalıkları öğretmektedir. 2004 yılında College of Science'da başarılı eğitmen olarak seçilmiştir. O, aynı zamanda hırslı bir golfçü ve bisikletçidir. Bir lise öğeretmeni olan eşi Judy ile birlikte Carbondale'de yaşamaktadır.

BROCK

Onbirinci Baskıdan Çeviri

MİKROORGANİZMALARIN BİYOLOJİSİ

Michael T. Madigan

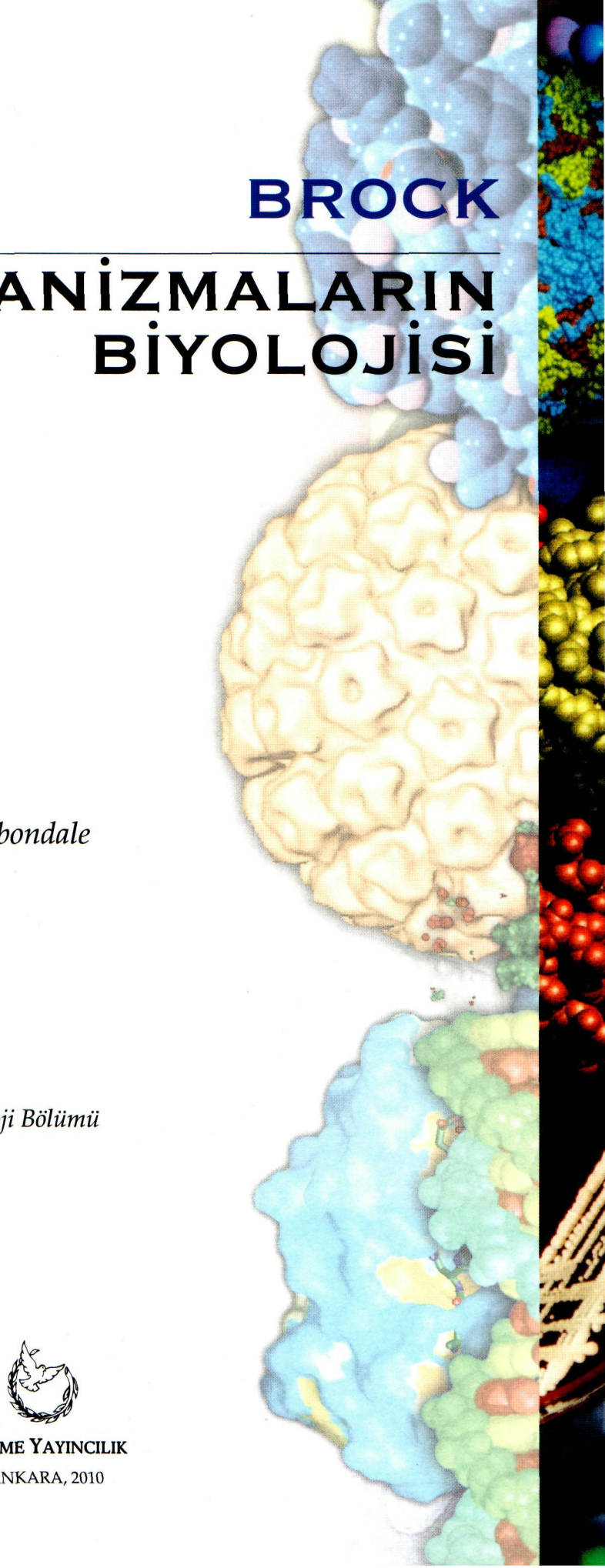
John M. Martinko

Southern Illinois University Carbondale

Çeviri Editörü

Prof. Dr. Cumhur Çökmüş

Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü



PALME YAYINCILIK

ANKARA, 2010

PALME YAYINLARI: 532

Mikroorganizmaların Biyolojisi / Michael T. Madigan, John M. Martinko

Çeviri Editörü : Prof.Dr. Cumhur Çökmüş

Palme Yayıncılık © 2010

Yayın Koordinatörü : H. İbrahim Somyürek

Yayına Hazırlama : PALME Dizgi-Grafik Tasarım Birimi

Baskı : Özkan Matbaacılık

ISBN : 978-605-5829-62-9

Kitabın Özgün Adı : **BROCK BIOLOGY OF MICROORGANISMS**
Eleventh Edition

Yazarları : **MICHAEL T. MADIGAN, JOHN M. MARTINKO**

Yayıncı Firma : **Pearson Education, Inc. Publishing as Prentice Hall**

Orijinal ISBN : **0-13-144329-1**

Bu kitabın Türkiye'deki her türlü yayın hakkı Palme Yayıncılık Ltd.Şti'ne aittir, tüm hakları saklıdır. Kitabın tamamı ya da bir kısmı 5846 sayılı yasanın hükümlerine göre, kitabı yayınlayan firmanın önceden izni olmadan elektronik, mekanik, fotokopi ya da herhangi bir kayıt sistemiyle çoğaltılamaz. Yayınlanamaz, depolanamaz.

Executive Editor: Gary Carlson
Editor-in-Chief: John Challice
Project Manager: Crissy Dudonis
Production Editor: Debra A. Wechsler
Executive Managing Editor: Kathleen Schiaparelli
Assistant Managing Editor: Beth Sweeten
Managing Editor, Media: Nicole M. Jackson
Editor-in-Chief, Development: Carol Trueheart
Development Editor: Jonathan Haber
Senior Media Editor: Patrick Shriner
Marketing Manager: Andrew Gilfillan
Assistant Manufacturing Manager: Michael Bell
Manufacturing Buyer: Alan Fischer
Director of Creative Services: Paul Belfanti
Art Director: Kenny Beck
Interior Design: Wanda España
Cover Design: Geoffrey Cassar
Managing Editor, Audio and Visual Assets: Patricia Burns
AV Production Manager: Ronda Whitson
AV Production Editor: Denise Keller/Sean Hogan
Art Studio: J/B Woolsey Associates
Manager, Composition: Allyson Graesser
Desktop Administration: Clara Bartunek
Electronic Page Makeup: Clara Bartunek, Julie Nazario, Jude Wilkens
Director, Image Resource Center: Melinda Reo
Manager, Rights and Permissions: Zina Arabia
Interior Image Specialist: Beth Brenzel
Cover Image Specialist: Karen Sanatar
Image Permission Coordinator: Debbie Latronica
Editorial Assistant: Jennifer Hart
Cover Image: Cells of a filamentous cyanobacterium (yellow) from a soda lake biofilm (see back cover text). Photo courtesy of Gernot Arp and Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena, Germany

PALME

YAYIN, DAĞITIM, PAZARLAMA, İÇ VE DIŞ TİCARET LTD. ŞTİ.
Merkez: A. Adnan Saygun Cad. No: 10/A Sıhhiye-ANKARA
Tel: 0.312-433 37 57 • Fax: 0.312-433 52 72
e-mail: palmeyayin@superonline.com, palmeyayincilik@yahoo.com.tr
http://www.palmeyayinevi.com

Ankara Şubesi	: Olgunlar Sok. No: 4/5 Bakanlıklar/ANKARA	Tel: 0.312 417 95 28 Faks: 0.312 419 69 64
Antalya Şubesi	: Meltem Mah. Dumlupınar Blv. Başkent Sit. No: 4 ANTALYA	Tel: 0.242 238 32 09 Faks: 0.242 238 45 02
İzmir Şubesi	: Kazım Dirik Mah. Ankara Cad. No: 259/C Bornova/İZMİR	Tel: 0.232 343 10 77 Faks: 0.232 343 10 78

ÇEVİRİ EDİTÖRÜNÜN ÖNSÖZÜ

Değerli okuyucular;

Bu çalışmada, bu güne kadar dünya genelindeki yaygın kullanımı yanında ülkemizde de gerek lisans gerekse lisansüstü düzeyde kaynak kitap olarak kullanılan ***"Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi"*** (***Brock Biology of Microorganisms***) kitabının, 7 farklı üniversiteden katılan alanlarında yetkin bilim insanlarıyla anadilimiz Türkçe'ye tercüme edilerek öğrenci ve öğretim elemanları için kaynak oluşturulmaya çalışılmıştır.

İlk kez 1967 yılında kaynama derecesindeki kaplıcalarda üreme yeteneğine sahip bakterileri keşfeden ve daha sonra *Taq* DNA polimeraz kaynağı olan *Thermus aquaticus*'u 1969 yılında izole eden araştırıcılardan biri olan Thomas Brock tarafından ilk kez 1970 yılında "Brock Biology of Microorganisms" orijinal adıyla basılan kitap en güncel bilgileri içermesi yanında teknik anlatımıyla da mükemmellik taşımaktadır. Kitap, temel mikrobiyoloji konuları yanında özellikle ekoloji, sağlık bilimleri, tarımsal bilimler, endüstri ve moleküler biyoloji alanlarındaki gelişmelerle de donatılmıştır.

Türkçe'ye çevirisi yapılan bu kitapla, mikrobiyoloji alanında elde edilen en son bilgilerin okuyucu ve araştırıcı kitlesine en etkili bir biçimde ulaştırılacağına ve bunun yanında Türkçe dilimize önemli bir katkı sağlanacağına inanıyorum. Çevirmen bilim insanlarımıza titiz çalışmaları ve ailelerine de hoşgörülerinden dolayı teşekkür ediyorum. Aynı bağlamda kitabın şekilsel düzeni konusundaki yardımlarından ve zaman ile ilgili hoşgörülerinden dolayı başta eşim olmak üzere kızım ve oğluma teşekkür ediyorum. Ayrıca görüşlerine başvurduğum değerli bilim insanlarına da teşekkürlerimi sunarım.

Kitabın çeviri, redaksiyon ve basımında gösterilen tüm titizliğe rağmen, bazı hataların hala bulunabileceğine inanıyorum. Değerli okuyucularımızın, kitapla ilgili hataları ve önerilerini tarafıma bildirmeleri bir sonraki baskı için önemli bir katkı sağlayacaktır. Yapacakları bu katkılarından dolayı değerli okuyucularımıza şimdiden teşekkürlerimi sunarım. Kitabın, ülkemizin bilimsel yenilikleri izleme, adapte olma ve yaşama geçirme yönündeki çabalarına katkı sağlaması dileğimle saygılarımı sunarım.

30.09.2009

Prof.Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ

ÇEVİRİ KURULU

Çeviri Editörü

Prof. Dr. Cumhur ÇÖKMÜŞ

Prof.Dr. **Cumhur ÇÖKMÜŞ**
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
İndeks

Prof.Dr. **Özfer YEŞİLADA**
İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
1, 2, 30. Bölüm

Prof.Dr. **İsmail KARABOZ**
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
22. Bölüm, 23. Bölüm, 29. Bölüm

Prof.Dr. **Zihni DEMİRBAĞ**
Karadeniz Teknik Üniveritesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
7, 8. Bölüm

Prof.Dr. **Mustafa AKÇELİK**
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
15, 21. Bölüm

Prof.Dr. **Gönül DÖNMEZ**
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
16. Bölüm

Prof.Dr. **Nevin KESKİN**
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
12, 26, 27. Bölüm

Prof.Dr. **Mahmut ÇALIŞKAN**
Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
10, 31. Bölüm

Doç.Dr. **Hikmet GEÇKİL**
İnönü Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
9, 14. Bölüm

Doç.Dr. **Afife İZBIRAK**
Hacettepe Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
3, 4, Ek 1, Ek 2, Sözlük

Doç.Dr. **Güven ÖZDEMİR**
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
17, 18, 19, 28. Bölüm

Doç.Dr. **Özlem OSMANAĞAOĞLU**
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
5, 6, 20. Bölüm

Doç. Dr. **Ataç UZEL**
Ege Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
24, 25. Bölüm

Yrd.Doç.Dr. **Birgül ÖZCAN**
Mustafa Kemal Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi Biyoloji Bölümü
13. Bölüm

Arş.Grv.Dr. **M. Dilek AVŞAROĞLU**
100. Yıl Üniversitesi Gıda Mühendisliği Bölümü
21. Bölüm

Dr. **Pınar GÜNEŞER**
Sağlık Bakanlığı Organ Nakli Adana Bölge Koordinasyon Merkezi
21. Bölüm

Arş.Grv.Dr. **Arzu ÇÖLERİ**
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
11. Bölüm

Arş.Grv. **Nefise AKKOÇ**
Ankara Üniversitesi Fen Fakültesi Biyoloji Bölümü
15, 21. Bölüm

Arş.Grv.Dr. **Ömer ŞİMŞEK**
Ankara Üniversitesi Biyoteknoloji Enstitüsü
15. Bölüm

ÖZET İÇERİK

ÜNİTE I MİKROBİYOLOJİNİN PRENSİPLERİ

Bölüm 1	Mikroorganizmalar ve Mikrobiyoloji	**1**
Bölüm 2	Mikrobiyal Yaşama Genel Bir Bakış	**21**
Bölüm 3	Makromoleküller	**38**
Bölüm 4	Hücre Yapısı/İşlevi	**55**
Bölüm 5	Beslenme, Laboratuvar Kültürü ve Mikroorganizmaların Metabolizması	**101**
Bölüm 6	Mikrobiyal Üreme	**135**
Bölüm 7	Moleküler Biyolojinin Esasları	**166**
Bölüm 8	Metabolik Regülasyon	**205**
Bölüm 9	Virolojinin Esasları	**230**
Bölüm 10	Bakteri Genetiği	**256**

ÜNİTE II EVRİMSEL MİKROBİYOLOJİ VE MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİK

Bölüm 11	Mikrobiyal Evrim ve Sistematik	**299**
Bölüm 12	Prokaryotik Çeşitlilik: *Bakteriler*	**329**
Bölüm 13	Prokaryotik Çeşitlilik: *Archaea*	**419**
Bölüm 14	Ökaryotik Hücre Biyolojisi ve Ökaryotik Mikroorganizmalar	**447**
Bölüm 15	Mikrobiyal Genomikler	**479**
Bölüm 16	Viral Çeşitlilik	**502**

ÜNİTE III METABOLİK ÇEŞİTLİLİK VE MİKROBİYAL EKOLOJİ

Bölüm 17	Metabolik Çeşitlilik	**531**
Bölüm 18	Mikrobiyal Ekolojide Yöntemler	**593**
Bölüm 19	Mikrobiyal Ekoloji	**613**

ÜNİTE IV İMMÜNOLOJİ, PATOLOJENİZİTE VE KONUKÇU TEPKİLERİ

Bölüm 20	Mikrobiyal Üremenin Kontrolü	**669**
Bölüm 21	Mikroorganizmaların İnsanlarla Etkileşimleri	**700**
Bölüm 22	İmmünolojinin Temelleri	**727**
Bölüm 23	Moleküler İmmünoloji	**761**
Bölüm 24	Tanısal Mikrobiyoloji Ve İmmünoloji	**778**

ÜNİTE V MİKROBİYAL HASTALIKLAR

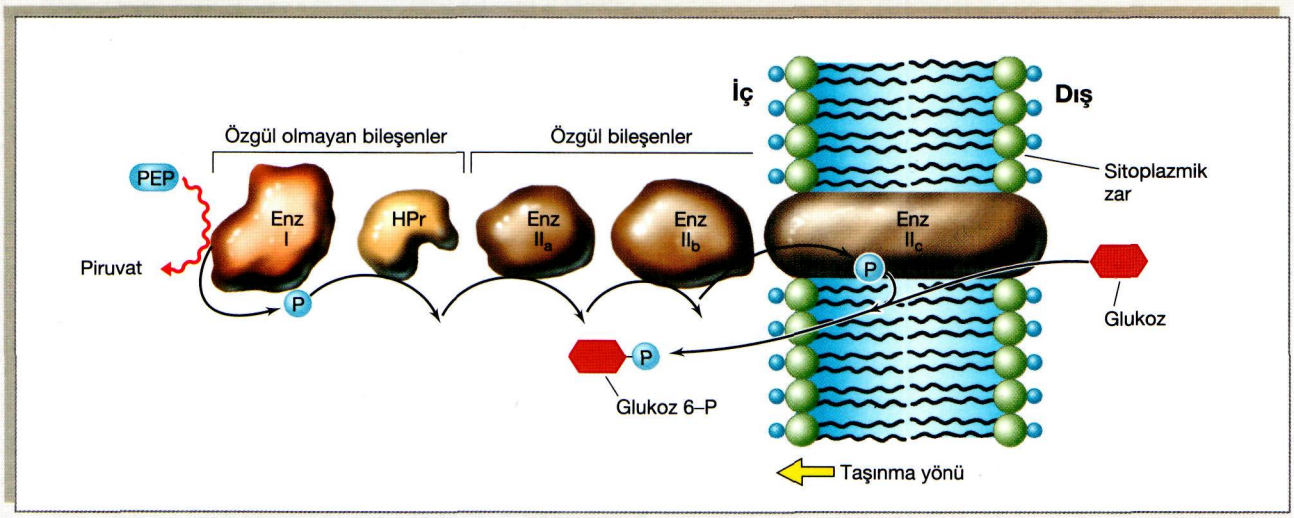
Bölüm 25	Epidemiyoloji	**817**
Bölüm 26	İnsandan İnsana Bulaşan Mikrobiyal Hastalıklar	**847**
Bölüm 27	Hayvanlarla Taşınan, Arthropodlarla Taşınan ve Toprak Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar	**885**
Bölüm 28	Atıksu Arıtımı, Su Arıtımı Ve Su Kaynaklı Mikrobiyal Hastalıklar	**906**
Bölüm 29	Gıdaların Korunması Ve Gıda-Orijinli Mikrobiyal Hastalıklar	**923**

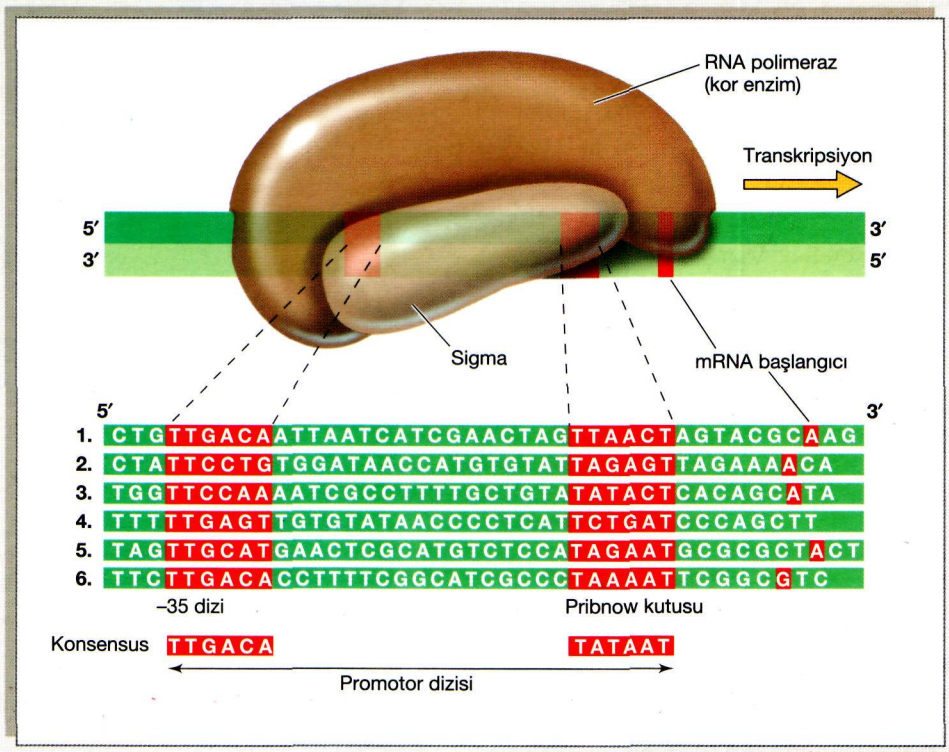
ÜNİTE VI ENDÜSTRİ VE ARAŞTIRMALARDA ARAÇ OLARAK MİKROORGANİZMALAR

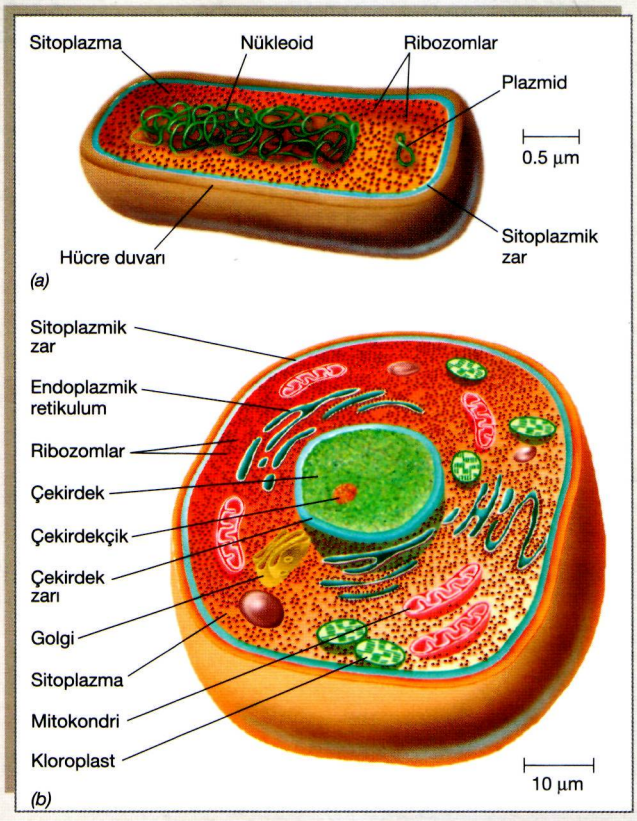
Bölüm 30	Endüstriyel Mikrobiyoloji	**941**
Bölüm 31	Genetik Mühendisliği ve Biyoteknoloji	**969**

ONBİRİNCİ BASKIYA GENEL BAKIŞ

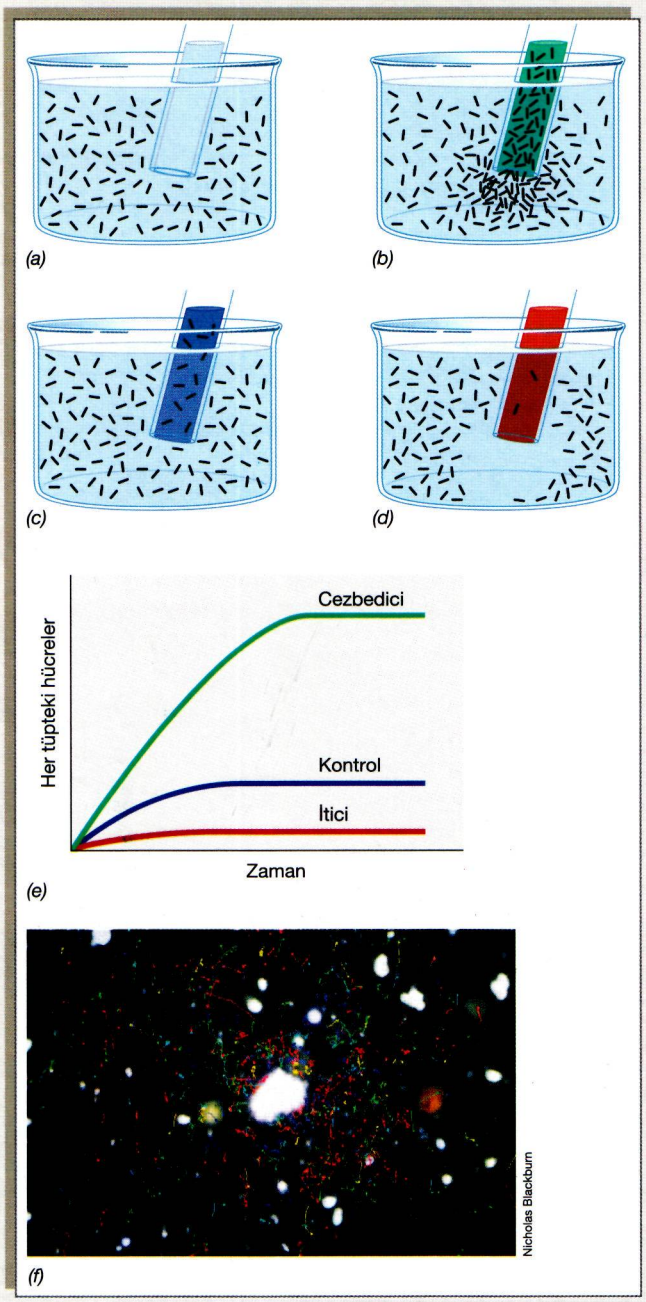
Her bir baskı grafikler yoluyla kavramların netleştirilmesi için bir fırsat sunmaktadır ve BBOM mikrobiyoloji alanındaki en sıra dışı **İllüstrasyon Programına** sahiptir. Her geçen yıl öğrenciler grafiklere daha fazla inanmakta ve *BBOM*, görsel cazipliği yanında şekil, fotoğraf tablolar bakımından da kaynak teşkile etmekte olup öğrencilerin materyali daha iyi anlamaları üzerine odaklanılmıştır. ▼







▲ Günümüzün görsel öğrencilerinin ihtiyaçları doğrultusunda, 11 inci baskıdaki yüzlerce grafik derinlik ve gerçekçilik nitelikleri arttırılacak biçimde tamamen yeniden tasarlanmış ve geliştirilmiştir.



Mümkün olan her durumda, soyut anlatımları biyolojinin somut gerçekleriyle bağdaştıran fotomikrografi tekniklere ve süreçlere dahil edilmiştir. ▶

ANLAMA

Bölümle İlgili Sözlük, mikrobiyoloji dilinin öğrenilmesinde öğrencilere kılavuz olma niteliğindedir. Her bölüme bu sözlükle başlayarak, öğrenciler terminolojiyi daha kolay öğrenecek ve anahtar kavramları daha ileri düzeyde anlayabileceklerdir. ▶

BÖLÜMLE İLGİLİ SÖZLÜK

Artı (pozitif)-zincir virüs RNA ya da DNA genomuna sahip olan ve genomu virüs mRNA'sı ile tam bir komplemanterite taşıyan virüs
Bakteriyofaj prokaryotik hücreleri enfekte eden virüs
Eksi (negatif)-zincir virüs RNA genomuna sahip olan ve bu RNA zinciri virüs mRNA'sı ile zıt anlam taşıyan virüs
Erken protein virüs enfeksiyonundan hemen sonra sentezlenen protein
Geç protein virüs enfeksiyonunun sonuna doğru sentezlenen protein
Ilımlı virüs genomunu içinde bulunduğu konakçının genomu ile birlikte replike etme yeteneğinde olan ve lizojenik halde bulunduğu için hücrenin ölümüne neden olmayan virüs
Litik yol virüs enfeksiyonundan sonra virüs replikasyonu ve konakçı hücrenin parçalanması (lizis) ile sonuçlanan bir seri basamak
Lizojen profaj içeren bakteri
Lizojenik yol virüs enfeksiyonundan sonra viral genomun bir profaj olarak konakçı genomu ile birlikte replike olduğu bir seri basamak (lizojeni)
Nükleokapsid bir virüsün nükleik asit ve proteinlerinden oluşan kompleks
Onkogen ekspresyonu kanser oluşumuna neden olan bir gen
Plak virüse duyarlı hücrelerden oluşan bir hücre tabakası üzerinde virüsün neden olduğu liziz veya hücre inhibisyon zonu
Prion hücre dışındaki formu nükleik asit içermeyen enfektif protein
Provirüs (profaj) ılımlı bir virüsün genellikle konakçı kromozomuna entegre olmuş halde replike olan genomu
Retrovirüs replikasyonu sırasında bir DNA aracısı kullanan RNA genomuna sahip virüs
Revers transkripsiyon RNA'da bulunan bilginin revers transkriptaz enzimi ile DNA'ya kopyalanması
Transformasyon ökaryotlarda normal bir hücrenin kanserli hücreye dönüşmesi olayı (Bölüm 10'daki alternatif kullanımına bakınız)
Virion nükleik asidi protein bir kılıf ve bazı durumlarda başka materyalle sarılı tam bir virüs partikülü
Viroid çeşitli bitki hastalıklarına neden olan küçük, halkasal, tek-zincirli RNA
Virulan virüs enfeksiyondan sonra konakçı hücreyi eriten veya öldüren bir virüs; ılımlı olmayan bir virüs
Virüs içerdiği DNA ya da RNA hücre içerisinde replike olan ve aynı zamanda hücre dışı formda da bulunabilen genetik element

1.7 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Beijerinck ve Winogradsky toprak ve sudaki bakterileri çalıştılar ve çeşitli fizyolojik grup üyelerinin izolasyonu için zenginleştirme kültür tekniğini geliştirdiler. Zenginleştirme kültürler, kemolitotrofi, kemoototrofi ve azot fiksasyonu dahil olmak üzere mikrobiyolojideki önemli yeni kavramlar bu dönemde ortaya çıktı.

- ◆ Zenginleştirme kültür tekniği nedir?
- ◆ Şekil 1.16'yı inceleyerek, kükürt oksidasyonu ve nitrifikasyonun neden kemolitotrofik süreçler olarak düşünülürken azot fiksasyonunun düşünülmediğini belirtiniz (*İpucu*: Her olayda ATP'nin katıldığı reaksiyonlara bakınız).

◀ **Kavramların Gözden Geçirilmesi,** kısmı öğrencileri bir sonraki konuya geçmeden önce durup anahtar kavramlar hakkındaki bilgilerini değerlendirmeye teşvik eder. Anlatım içerisinde görülen yeni bir "dur işareti" ikonu, kavramların gözden geçirilmesi gerekliliğini işaret eder.

Mikrobiyal Ek Bilgi ◆ RNA' nın Düzenlenmesi

Bölüm 7 ve 14'te bazı genlerin içerdiği kodlama bölgelerinin, kodlama yapmayan ve intron olarak adlandırılan bölgelerle ayrıldığını görmüştük. Tipik olarak intronlar, olgun mRNA'yı oluşturmak üzere, transkripsiyondan sonra meydana gelen ve *işleme* adı verilen bir süreçte çıkarılır (Kısım 14.8). Organellerin genomlarında, "işleme" nin hemen hemen tersi bir mekanizma olan, RNA düzenlenmesi' durumunun saptanması ilginçtir.

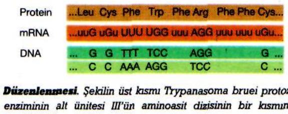
RNA düzenlenmesi; transkripsiyonu yapılan DNA'da bulunmayan nükleotitlerin olgun mRNA' ya ilavesi ya da çıkarılması işlemidir. Bu düzenleme aynı zamanda mRNA' daki bir bazın bir başka baza değişmesine yol açan kimyasal modifikasyonu da kapsamaktadır. RNA düzenlenmesi her iki durumda da kendi geni tarafından kodlanan polipeptide, bir ya da daha fazla farklı amino asidi ilave etmek suretiyle kodonları değiştirebilmektedir.

Tripanazom ve benzeri protozoa mitokondrilerinde (Kısım 14.10) bazı mitokondriyel transkriptler, çok sayıda üridilat ilavesi veya nadiren çıkarılması yolu ile düzenlenir. Bu tip RNA düzenlemesinin bir örneği Şekil 1 'de verilmiştir. RNA düzenlemesi, mRNA'da yer alan ve özel düzenlemelere katılan enzimlere "rehberlik" eden kısa diziler tarafından kontrol edilmektedir. Bu işlem doğru bir şekilde kontrol edilmelidir. Çünkü, çok fazla veya az bazın ilavesi okuma kalıbı kaymasına neden olarak, ürünü işlevsiz hale getirebilir.

Bir bazın bir başka baza değiştirilmesi suretiyle gerçekleştirilen bir diğer RNA düzenlenmesi, yüksek bitkilerin mitokondri ve kloroplastlarında oldukça yaygındır. Bazı mRNA'lar içerisindeki özel bölgelerde, oksidatif deaminasyon yolu ile Sitozin (C); Urasil (U)'e dönüştürülür (Tersi modifikasyon daha nadir meydana gelir). Mısır kloroplastında C'nin U'le dönüştürüldüğü en az 25 bölge bulunmaktadır. Bu durum çoğunlukla organeller için gerekli olsa da, C'nin U'e programlanmış dönüşümü, memeli çekirdek geni için de saptanmıştır. Düzenlenmenin olduğu bölgeye bağlı olarak, meydana gelen yeni kodon, gen tarafından kodlanmayan bir protein dizisinin oluşumuna öncülük edebilir.

RNA düzenlenmesi karmaşık bir süreç olmasına rağmen, organel genomlarının analizinde önemli bir engel teşkil etmez. Bu durum, söz konusu organeller tarafından kodlanan proteinlerin küçük ve oldukça iyi korunmuş olmalarından ileri gelmektedir. Hücrelerde yaygın olarak bulunan RNA düzenlenmesinin aksine, farklı organizmalardaki ortolog genlerin tanımlanması ve genomik yorumların yapılması, genom analizlerinde bugüne kadar karşılaşılan en önemli güçlüklerdir.

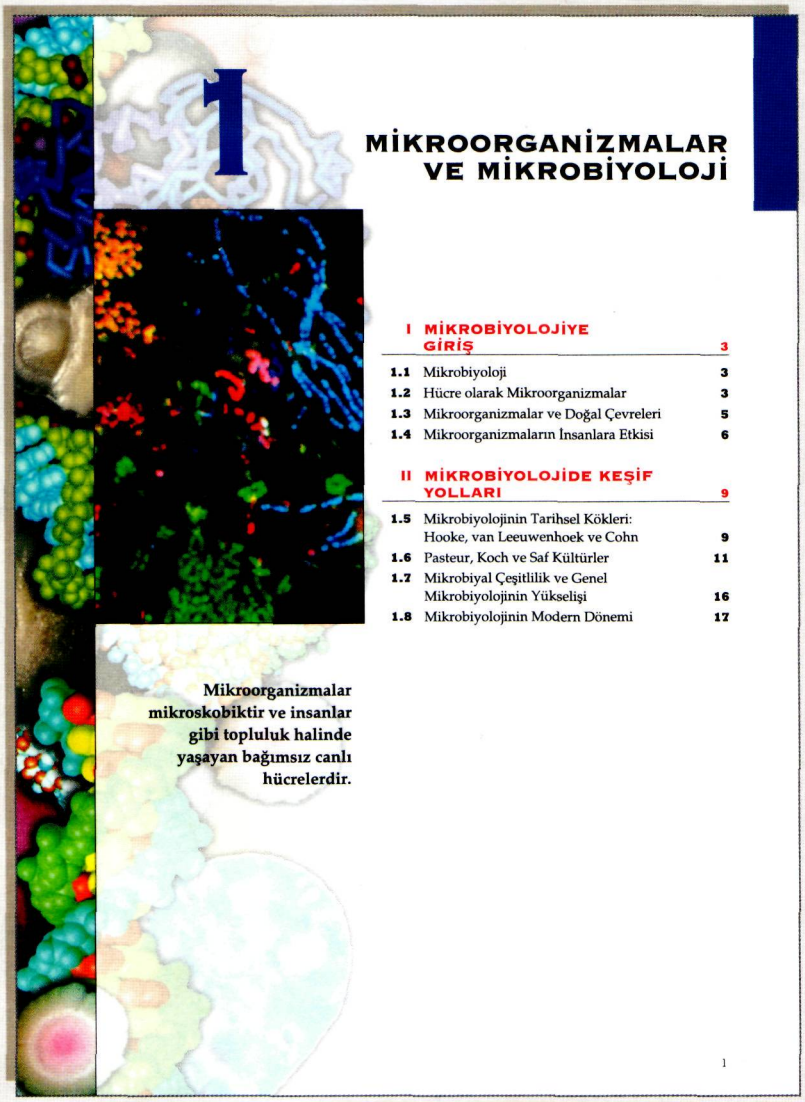
RNA düzenlenmesinin işlevi ve orijini bilinmemektedir. Fakat bazı bilim adamları bu işlemin; ribozimler (Kısım 14.7) ve diğer katalitik RNA'larla birlikte, RNA dünyasının diğer bir parçası olduğuna işaret etmektedir (Kısım 11.2). ■



Şekil 1. RNA Düzenlenmesi. *Şekilin üst kısmı Trypanasoma bruei protozoonuna ait sitokrom oksidaz enziminin alt ünitesi III'ün aminoasit dizisinin bir kısmını göstermektedir (Kısım 14.10). Bu protein mitokondri tarafından kodlanmaktadır. Aminoasit dizisinin altında, bu bölge için haberci RNA dizisi de verilmiştir (mRNA). Büyük harfle yazılmış olan bazlar genden transkribe edilenlerdir. mRNA'da yer alan küçük harfle yazılmış olanlar ise RNA düzenlenmesi ile transkript içerisine yerleştirilen bazlardır. DNA' da birçok enformasyonel boşluk olsa da, molekülde boşluk bulunmaz. Baz çiftleri arasındaki boşluklar görülebilirliği kolaylaştırmak amacı ile konulmuştur.*

Mikrobiyal Ek Bilgiler, daha önceden kutucuklar içerisinde verilen bilgilerin yerini almıştır. Görsellerle birlikte tasarlanmış bu kısımlar, ilgi çekici, zamanlı ve her bir bölümün ana temasına bağlantılı olacak biçimde yazılmıştır. ▶

BULMA



1 MİKROORGANİZMALAR VE MİKROBİYOLOJİ

I MİKROBİYOLOJİYE GİRİŞ 3

1.1 Mikrobiyoloji 3
1.2 Hücre olarak Mikroorganizmalar 3
1.3 Mikroorganizmalar ve Doğal Çevreleri 5
1.4 Mikroorganizmaların İnsanlara Etkisi 6

II MİKROBİYOLOJİDE KEŞİF YOLLARI 9

1.5 Mikrobiyolojinin Tarihsel Kökleri: Hooke, van Leeuwenhoek ve Cohn 9
1.6 Pasteur, Koch ve Saf Kültürler 11
1.7 Mikrobiyal Çeşitlilik ve Genel Mikrobiyolojinin Yükselişi 16
1.8 Mikrobiyolojinin Modern Dönemi 17

Mikroorganizmalar mikroskobiktir ve insanlar gibi topluluk halinde yaşayan bağımsız canlı hücrelerdir.

1

◀ Sayfaları gösterecek şekilde verilen **Kısım Numaraları** öğrencilerin özet çıkarması ve not alması açısından organize edilmesinin yanısıra kolayca okumasını da temin eder.

içerirler. Bütün hücrelerin, **sitoplazmik membran** adlı ve hücre içerisini dışarıdan ayıran bir bariyeri vardır (Şekil 2.1•). Hücrenin ihtiyaç duyduğu besinlerin ve diğer maddelerin girdiği, atık maddeler ve diğer hücresel ürünlerin çıktığı kısım sitoplazmik membrandır. **Sitoplazma** adı verilen kompleks

◀ **Şekil Referans Belirleyiciler** konudaki şekil referanslarına bitişik olarak bulunur. Öğrenciler tarafından talep edilen bu kırmızı noktalar öğrencilerin bir şekli gördükten sonra konuya hızlı bır şekilde dönerek daha etkin bir şekilde çalışmalarına yardım olur.

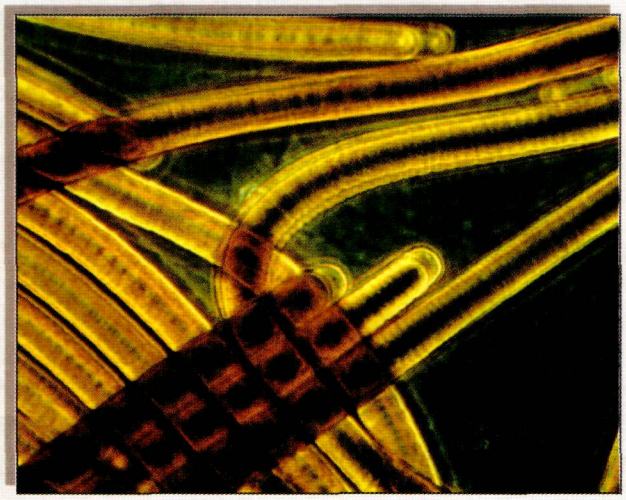
Mavi bir zincir ile gösterilen **Kavram Linkleri,** öğrencileri metnin diğer kısımları ile ilgili bir kavram hakkında uyarıcı niteliğindedir. Her bir link, öğrencilere kısım numaraları verme yolu ile ilişkili materyali incelemeleri konusunda yol gösterirken, kavramlar arasında devamlı olarak bağlantılar kurmalarına yardımcı olur. ▶

Tipik bir Winogradsky kolonunda çeşitli organizmalar gelişir. Algler ve siyanobakteriler su kolonunun üst bölümünde hızlı şekilde ortaya çıkar. Bu organizmalar O_2 üreterek bu zonun oksik kalmasına yardımcı olurlar. Çamurdaki dekompozisyon süreçleri sülfat indirgeyen bakteriler için uygun substratlar olan organik asitler, H_2 ve alkollerin üretimini sağlar (∞ Kısım 12.18, 13.7, 17.15 ve 19.13). Bu sayede, sülfat indirgeyiciler aracılığıyla ortaya çıkan sülfürü elektron vericisi olarak kullanan fotosentetik mor ve yeşil sülfür bakterilerinin (anoksijenik fototroflar, ∞ Kısım 12.2 ve 12.32) gelişimi başlar. Bu organizmalar tipik olarak kolonun

ÖĞRETMEN KAYNAK MERKEZİ CD/DVD PAKETİ

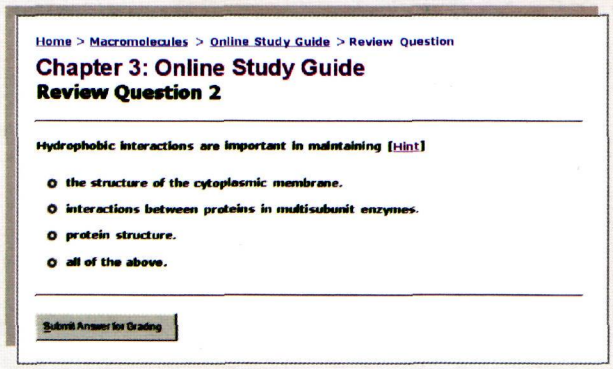
Öğretmen Kaynak Merkezi CD/DVD (0-13-144340-2)

ÖKM CD/DVD paketi bir öğretmenin ders hazırlamak ve sunmak için ihtiyaç duyacağı herşeyi içermektedir. Kolay kullanılabilir menüler ve dışa aktarım özellikleri kaynakları bulmanızı ve etkili sunumlar hazırlamanızı sağlayacaktır. ÖKM CD/DVD paketinde şunlar mevcuttur:



- Metin içerisindeki çizimler, fotoğraflar ve tabloların projeksiyon amaçlı düzenlenmiş JPEG dosyaları
- Herbir bölüm için kapsamlı PowerPoint® sunumları içerisindeki metin şekilleri ve tabloların JPEG dosyaları
- Herbir bölüm için ders notlarından ve önemli şekillerden oluşan ayrı bir PowerPoint® sunum seti
- 11. Baskı'da anlatılan önemli konulara, dinamik süreçlere ve tekniklere derinlik ve açıklık kazandıran TAMAMEN YENİ Öğretmen Animasyonları
- Geniş kapsamlı bir CRS/Sınıfiçi soru seti
- Öğretmen Kılavuzu'nun ve Soru Bankası da dahil olmak üzere değerlendirme materyalinin Word dosyaları
- Herbir bölümdeki ortam materyalinin açıklamalarını içeren Ortam Entegrasyon Kılavuzu'nun yazdırılabilir PDF dosyaları

YARDIMCI WEBSİTESİ



Yardımcı Websitesi

www.prenhall.com/madigan

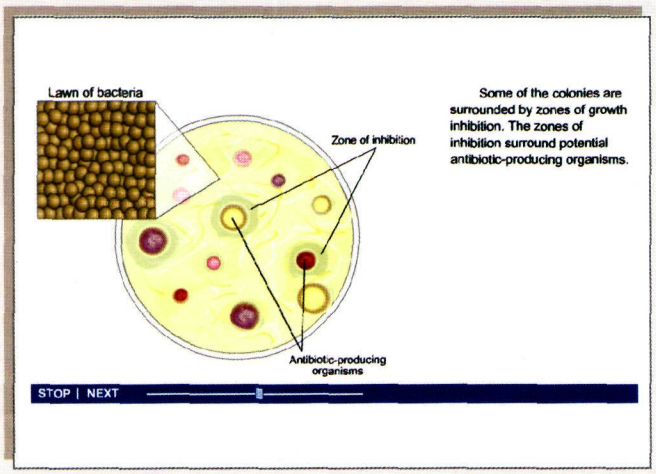
Yardımcı Websitesi'nde 11. Baskı'nın öğrenciler tarafından anlaşılmasına yardımcı olacak değerli çalışma araçları sunulmaktadır. Bunlardan bazıları:

- Çevrimiçi Çalışma Kılavuzu işlenen konulara kısımlar bazında odaklanan, özetlerden, önemli resimlerden ve tekrar sorularından oluşan genel tekrarlar sağlamaktadır.
- "Gelişimini Takip Et" aracı, öğrencilere çalışma zamanlarını nereye yoğunlaştırmaları gerektiğini anlama konusunda yardımcı olur ve çabalarının ne derece başarılı olduğunu gösterir
- **TAMAMEN YENİ** Web Dersleri öğrencilerin temel konuları, süreçleri ve teknikleri canlandırmalarına yardımcı olur

ANİMASYON KAYNAKLARI

Öğretmen Animasyon ve Öğrenci Web Dersleri konuları:

Pasteur's Experiment
Koch's Postulates
The Gram Stain
The Prokaryotic Flagellum
Aseptic Transfer and the Streak Plate Method
Direct Microscopic Counting Procedure (Petroff-Hausser Chamber)
DNA Replication
The Polymerase Chain Reaction (PCR)
Transcription
Translation
Enzyme Regulation
Negative Control of Transcription and the *lac* Operon
Attenuation and the Tryptophan Operon
A Temperate Bacteriophage
The Molecular Basis for Mutations
Replica Plating
The Molecular Basis for Mutations
Generating Phylogenetic Trees from RNA Sequences
Cell Division in Conventional, Budding, and Stalked Bacteria
Bacteriorhodopsin and Light-Mediated ATP Synthesis
Life Cycle and Mating Type Switching in a Typical Yeast
DNA Chips
Replication of Poliovirüs
Electron Transport Processes: Aerobic and Anaerobic Conditions



Enrichment Cultures
Serial Dilutions and a Most-Probable Number Analysis
Root Nodule Bacteria and Symbiosis with Legumes
Antibiotic Modes of Action
Diphtheria and Cholera Toxins
Antigen Presentation
Producing Monoclonal Antibodies
The ELISA Test
HIV Replication
Life Cycle of the Malaria Parasite
Isolation and Screening of Antibiotic Producers
Production of Recombinant Vaccinia Virüs

DİĞER KAYNAKLAR

Testli Öğretmen Kaynak Kılavuzu (0-13-144342-9)
Bu kılavuz ve soru bankası, öğretmenlerin sınav hazırlamakta kullanabileceği 2000'den fazla soru içermektedir. Bu kaynakta aynı zamanda bölüm özetleri ve bölüm sonlarındaki tekrar ve uygulama sorularının cevapları bulunmaktadır.

Test Gen EQ Bilgisayarlı Test Yazılımı (0-13-144337-2)
Basılı kitaba ek olarak, test soruları ağ üzerinde ortak çalışılabilir metin bazlı bir test programı olan Test Gen EQ Test Yazılımı'nın bir parçası olarak ta mevcuttur. Ayrıca bu yazılım, öğretmenlerin soruları inceleyip üzerlerinde değişiklik yapmalarına, test biçiminde dışarıya taşımalarına ve farklı biçimlerde yazdırmalarına imkan sağlamaktadır.

Asetatlar (0-13-144341-0)
Bu asetat paketinde metin içerisinde bulunan 400 görsel yer almaktadır. Sınıfların en arka kısmından da rahatça görülebilmeleri için başlıkların yazı karakteri büyüklükleri arttırılmıştır.

Araştırma Gezgini (Research Navigator) www.researchnavigator.com
Prentice Hall'un Research Navigator™ yazılımı, EBSCO's Content Select™ Academik Dergi Veritabanına, The New York Times Konuya Göre Arama Arşivine (Search by Subject Archive), "Web'in En İyisi" ("Best of the Web") Link Kütüphanesine ve en son haberler ile güncel gelişmelere erişim sağlama yoluyla öğrencilerinizin çok çeşitli konulardaki en yeni bilgilere ulaşmalarını sağlamaktadır. Bu değerli araç öğrencilerin en faydalı makale ve dergileri bulmalarını, kaynaklara atıfta bulunmalarını ve araştırma ödevleri için etkili makaleler yazmalarını kolaylaştırmaktadır.

SafariX Çevrimiçi Ders Kitapları (Textbooks Online) paradan tasarruf etmek isteyen öğrenciler için cazibesi olan yeni bir seçenektir. Basılı ders kitabını satın almaya bir alternatif olarak, öğrenciler aynı içeriğe çevrimiçi olarak üye olabilmekte ve basılı kitabın tavsiye edilen liste fiyatının %50'si oranında tasarruf edebilmektedirler. SafariX WebBook ile öğrenciler metin içerisinde arama yapabilmekte, çevrimiçi notlar alabilmekte, ders notlarını bir araya getiren okuma ödevlerini yazdırabilmekte ve daha sonra tekrar incelemek üzere önemli kısımları işaretleyebilmektedirler. SafariX WebBook hakkında daha fazla bilgi edinmek veya üye olmak için www.safarix.com adresini ziyaret ediniz.

Ders Yönetimi
Prentice Hall tüm öğretmenlere ve öğrencilere 11. Baskı için tercih edilen ders yönetimi platfomuna uygun ortam kaynakları sağlamaktadır. Bu kaynakların detayları için http://cms.prenhall.com adresini ziyaret ediniz.

İÇİNDEKİLER

ÖNSÖZ XXIII

ÜNİTE I
MİKROBİYOLOJİNİN PRENSİPLERİ

BÖLÜM 1
MİKROORGANİZMALAR VE MİKROBİYOLOJİ 1

I MİKROBİYOLOJİYE GİRİŞ 3
- 1.1 Mikrobiyoloji 3
- 1.2 Hücre Olarak Mikroorganizmalar 3
- 1.3 Mikroorganizmalar ve Doğal Çevreleri 5
- 1.4 Mikroorganizmaların İnsanlara Etkisi 6

II MİKROBİYOLOJİDE KEŞİF YOLLARI 9
- 1.5 Mikrobiyolojinin Tarihsel Kökleri: Hooke, van Leeuwenhoek ve Cohn 9
- 1.6 Pasteur, Koch ve Saf Kültürler 11
- 1.7 Mikrobiyal Çeşitlilik ve Genel Mikrobiyolojinin Yükselişi 16
- 1.8 Mikrobiyolojinin Modern Dönemi 17

BÖLÜM 2
MİKROBİYAL YAŞAMA GENEL BİR BAKIŞ 21

I HÜCRE YAPISI VE EVRİMSEL GEÇMİŞ 22
- 2.1 Hücrenin Elemanları ve Viral Yapı 22
- 2.2 Mikrobiyal Hücrelerde DNA'nın Düzenlenmesi 24
- 2.3 Yaşam Ağacı 26

II MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİK 28
- 2.4 Mikroorganizmaların Fizyolojik Çeşitliliği 28
- 2.5 Prokaryotik Çeşitlilik 30
- 2.6 Ökaryotik Mikroorganizmalar 35

BÖLÜM 3
MAKROMOLEKÜLLER 38

I CANLI SİSTEMLERDEKİ KİMYASAL BAĞLAR VE SU 39
- 3.1 Kuvvetli ve Zayıf Kimyasal Bağlar 39
- 3.2 Makromoleküllere ve Canlılardaki Çözücü Olan Suya Genel Bakış 42

II BİLGİ TAŞIMAYAN MAKROMOLEKÜLLER 43
- 3.3 Polisakkaritler 43
- 3.4 Lipidler 45

III BİLGİ TAŞIYAN MAKROMOLEKÜLLER 46
- 3.5 Nükleik Asitler 46
- 3.6 Amino Asitler ve Peptid Bağı 48
- 3.7 Proteinler: Birincil ve İkincil Yapı 50
- 3.8 Proteinler: Yüksek Yapısal Düzen ve Denatürasyon 51

BÖLÜM 4
HÜCRE YAPISI/İŞLEVİ 55

I MİKROSKOBİ VE HÜCRE MORFOLOJİSİ 56
- 4.1 Işık Mikroskobu 56
- 4.2 Üç-Boyutlu Görüntüleme: İnterferens Kontrast, Atomik Güç ve Konfokal Taramalı Lazer Mikroskoplar 60
- 4.3 Elektron Mikroskop 62
- 4.4 Hücre Morfolojisi ve Küçük Olmanın Önemi 63

II HÜCRE ZARLARI VE HÜCRE DUVARLARI 66
- 4.5 Sitoplazmik Zar: Yapısı 66
- 4.6 Sitoplazmik Zar: İşlevi 69
- 4.7 Zardaki Taşıma Sistemleri 71
- 4.8 Prokaryotik Hücre Duvarı: Peptidoglikan ve Buna Benzeyen Moleküller 74
- 4.9 Gram-Negatif *Bacteria*'da Dış Zarı 79

III YÜZEY YAPILARI VE PROKARYOTLARDAKİ İNKLÜZYONLAR 82
- 4.10 Bakteri Hücre Yüzeyi Yapıları 82
- 4.11 Hücre İnklüzyonları 83
- 4.12 Gaz Vezikülleri 85
- 4.13 Endosporlar 87

IV MİKROBİYAL HAREKET 91
- 4.14 Kamçı ve Hareket 92
- 4.15 Kayma Hareketi 95
- 4.16 Davranışsal Cevap Olarak Hücre Hareketi: Kemotaksis ve Fototaksis 97

BÖLÜM 5
BESLENME, LABORATUVAR KÜLTÜRÜ VE MİKROORGANİZMALARIN METABOLİZMASI 101

I BESLENME VE MİKROORGANİZMA KÜLTÜRÜ 102
- 5.1 Mikrobiyal Beslenme 102
- 5.2 Kültür Besiyerleri 105
- 5.3 Mikroorganizmaların Laboratuvar Kültürü 107

II ENERJİ VE ENZİMLER 108
- 5.4 Biyoenerjetik 108
- 5.5 Kataliz ve Enzimler 110

III OKSİDASYON-REDÜKSİYON VE ENERJİ AÇISINDAN ZENGİN BİLEŞİKLER 112
- 5.6 Oksidasyon-Redüksiyon 112
- 5.7 Redoks Elektron Taşıyıcısı Olarak NAD 114
- 5.8 Enerji Açısından Zengin Bileşikler ve Enerjinin Depolanması 116

IV MERKEZİ KATABOLİK YOLLAR, ELEKTRON TAŞINMASI VE PROTON MOTİVE GÜÇ 117

5.9 Enerjinin Korunması: Tercihler 117
5.10 Bir Fermentasyon Örneği Olarak Glikoliz 118
5.11 Solunum ve Zara-Bağlı Elektron Taşıyıcıları 120
5.12 Proton motive Güçten Enerji Eldesi 123

V SOLUNUMDA KARBON AKIŞI VE KATABOLİK ALTERNATİFLER 126

5.13 Solunumda Karbon Akışı: Sitrik Asit Döngüsü 127
5.14 Katabolik Alternatifler 127

VI BİYOSENTEZ 130

5.15 Şeker ve Polisakkarit Biyosentezi 130
5.16 Amino Asit ve Nükleotit Biyosentezi 131
5.17 Yağ Asitleri ve Lipidlerin Biyosentezi 132

BÖLÜM 6
MİKROBİYAL ÜREME 135

I BAKTERİYAL HÜCRE BÖLÜNMESİ 136

6.1 Hücre Gelişmesi ve İkiye Bölünerek Çoğalma 136
6.2 Fts Proteinleri, Hücre Bölünme Düzlemi ve Hücre Morfolojisi 137
6.3 Peptidoglikan Sentezi ve Hücre Bölünmesi 139

II BAKTERİ POPÜLASYONUNUN ÇOĞALMASI 140

6.4 Çoğalma Terminolojisi ve Logaritmik Üreme Kavramı 140
6.5 Logaritmik Üremenin Matematiği 142
6.6 Üreme Döngüsü 142

III MİKROBİYAL ÜREMENİN ÖLÇÜLMESİ 144

6.7 Mikrobiyal Üremenin Doğrudan Ölçümü: Toplam ve Canlı Hücre Sayımı 144
6.8 Mikrobiyal Üremenin Dolaylı Ölçümü: Bulanıklık 147
6.9 Sürekli Kültür: Kemostat 148

IV ÇEVRESEL ETMENLERİN MİKROBİYAL ÜREME ÜZERİNE ETKİLERİ: SICAKLIK 150

6.10 Sıcaklığın Üreme Üzerine Etkisi 150
6.11 Düşük Sıcaklıklarda Mikrobiyal Üreme 152
6.12 Yüksek Sıcaklıklarda Mikrobiyal Üreme 154

V ÇEVRESEL ETMENLERİN MİKROBİYAL ÜREME ÜZERİNE ETKİLERİ: pH, OZMOLARİTE VE OKSİJEN 157

6.13 Düşük ya da Yüksek pH'larda Mikrobiyal Üreme 157
6.14 Mikrobiyal Üreme Üzerine Ozmotik Etkiler 158
6.15 Oksijen ve Mikrobiyal Gelişme 160
6.16 Toksik Oksijen Formları 163

BÖLÜM 7
MOLEKÜLER BİYOLOJİNİN ESASLARI 166

I GENLER VE GEN İFADESİ 167

7.1 Makromoleküller ve Genetik Bilgi 167

II DNA'NIN YAPISI 169

7.2 DNA'nın Yapısı: İkili Sarmal 169
7.3 DNA'nın Yapısı: Süper Sarmal 172
7.4 Kromozomlar ve Diğer Genetik Elemanlar 174

III DNA REPLİKASYONU 176

7.5 DNA Replikasyonu: Kalıplar ve Enzimler 176
7.6 DNA Replikasyonu: Replikasyon Çatalı 177

IV DNA ÇALIŞMA YOLLARI 182

7.7 Restriksiyon Enzimleri ve Hibridizasyon 182
7.8 Dizi Analizi ve DNA Sentezi 184
7.9 DNA'nın Çoğaltılması: Polimeraz Zincir Reaksiyonu 186

V RNA SENTEZİ: TRANSKRİPSİYON 188

7.10 Transkripsiyona Genel Bakış 188
7.11 Sigma Faktörlerinin Çeşitliliği, Ortak Diziler ve Diğer RNA Polimerazlar 190
7.12 Transkripsiyon Sonlandırıcılar 191
7.13 Transkripsiyon Ünitesi 192

VI PROTEİN SENTEZİ 193

7.14 Genetik Kod 193
7.15 Transfer RNA 196
7.16 Translasyon: Protein Sentezi İşlemi 199
7.17 Protein Katlanması ve Salgılanması 202

BÖLÜM 8
METABOLİK REGÜLASYON 205

I REGÜLASYONA GENEL BAKIŞ 206

8.1 Başlıca Regülasyon Şekilleri 206

II ENZİM AKTİVİTESİNİN REGÜLASYONU 207

8.2 Kovalent Olmayan Enzim İnhibisyonu 207
8.3 Enzimlerin Kovalent Modifikasyonu 209

III DNA-BAĞLANMA PROTEİNLERİ VE TRANSKRİPSİYONUN NEGATİF VE POZİTİF KONTROLLE DÜZENLENMESİ 210

8.4 DNA- Bağlanma Proteinleri 211
8.5 Transkripsiyonun Negatif Kontrolü: Represyon ve İndüksiyon 212
8.6 Transkripsiyonun Pozitif Kontrolü 215

IV GLOBAL REGÜLATÖR MEKANİZMALAR 216

8.7 Global Kontrol ve *lac* Operonu 216
8.8 Stringent (Sınırlandırılmış) Cevap 218
8.9 Diğer Global Kontrol Ağları 219
8.10 Quorum Algılama 221

V DİĞER REGÜLASYON MEKANİZMALARI 222
8.11 Attenuasyon 222
8.12 Sinyal İletimi ve İki-Bileşenli Regülatör Sistemler 224
8.13 Kemotaksis'in Regülasyonu 226
8.14 RNA Regülasyonu ve Riboşarteller 228

BÖLÜM 9
VİROLOJİNİN ESASLARI 230

I VİRÜS VE VİRİON 231
9.1 Virüslerin Genel Özellikleri 231
9.2 Virion Yapısı 232

II ÇOĞALMA VE ÖLÇÜMÜ 236
9.3 Virüs Konakçısı 236
9.4 Virüslerin Sayımı 236

III VİRAL REPLİKASYON 238
9.5 Virüs Replikasyonunun Genel Özellikleri 238
9.6 Virüs Çoğalması: Tutunma ve Penetrasyon 239
9.7 Virüs Çoğalması: Viral Nükleik Asit ve Protein Sentezi 240

IV VİRAL ÇEŞİTLİLİK 242
9.8 Bakteriyal Virüslere Genel Bakış 242
9.9 Virulan Bakteriyofajlar ve T4 243
9.10 Ilımlı Bakteriyofajlar 245
9.11 Lamda Bakteriyofajı 246
9.12 Hayvan Virüslerine Genel Bakış 250
9.13 Retrovirüsler 251

V SUB-VİRAL PARTİKÜLLER 253
9.14 Viroidler ve Prionlar 253

BÖLÜM 10
BAKTERİ GENETİĞİ 256

I MUTASYON VE REKOMBİNASYON 257
10.1 Mutasyonlar ve Mutantlar 257
10.2 Mutasyonun Moleküler Temeli 259
10.3 Mutasyon Oranları 262
10.4 Mutagenez 263
10.5 Mutagenez ve Karsinogenez: Ames testi 266
10.6 Genetik Rekombinasyon 267

II PROKARYOTLARDA GENETİK MADDE DEĞİŞİMİ 268
10.7 Transformasyon 268
10.8 Transdüksiyon 271
10.9 Plazmitler: Genel Prensipler 274
10.10 Plazmit Çeşitleri ve Plazmitlerin Biyolojik Önemi 276
10.11 Konjugasyon: Temel Özellikler 278
10.12 Hfr Suşlarının Oluşması ve Kromozom Hareketi 279
10.13 Komplementasyon 282
10.14 Transpozonlar ve İnsersiyon Dizileri 284

III BAKTERİ GENETİĞİ VE GEN KLONLAMASI 287
10.15 Moleküler Klonlamanın Temelleri 287
10.16 Klonlama Vektörleri Olarak Plazmitler 288
10.17 Klonlama Vektörü Olarak Lambda Bakteriyofajı 290
10.18 *In vitro* ve Yönlendirilmiş Mutagenez 292

IV BAKTERİ KROMOZOMU 294
10.19 *Escherichia coli* Kromozomunun Genetik Haritası 294

ÜNİTE II
EVRİMSEL MİKROBİYOLOJİ VE MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİK

BÖLÜM 11
MİKROBİYAL EVRİM VE SİSTEMATİK 299

I İLKEL DÜNYA, YAŞAMIN KÖKENİ VE MİKROBİYAL ÇEŞİTLENME 300
11.1 Dünyanın ve İlk Yaşam Formlarının Evrimi 300
11.2 İlkel Yaşam: RNA Dünyası ve Moleküler Kodlama 303
11.3 İlkel Yaşam: Enerji ve Karbon Metabolizması 304
11.4 Eukaryalar ve Organeller: Endosimbiyoz 307

II EVRİMSEL İLİŞKİLERİ BELİRLEMEDE KULLANILAN YÖNTEMLER 309
11.5 Evrimsel Kronometreler 309
11.6 Moleküler Evrim Aracı Olarak Ribozomal RNA Dizileri 309
11.7 Sinyal Diziler, Filogenetik Problar ve Mikrobiyal Topluluk Analizleri 312

III MİKROBİYAL EVRİM 314
11.8 Ribozomal RNA Dizilerinden Elde Edilen Mikrobiyal Filogeni 314
11.9 Canlı Domainlerinin Özellikleri 316

IV MİKROBİYAL TAKSONOMİ VE FİLOGENİ İLE İLİŞKİSİ 318
11.10 Klasik Taksonomi 318
11.11 Kemotaksonomi 320
11.12 Mikrobiyolojide Tür Kavramı 324
11.13 Adlandırma ve *Bergey's Manual* 326

BÖLÜM 12
PROKARYOTİK ÇEŞİTLİLİK: *BACTERIA* 329

I BAKTERİLERİN FİLOGENİSİ 331
12.1 *Bacteria*'nın Filogenisine Genel Bakış 331

II ŞUBE 1: PROTEOBACTERIA 332
12.2 Mor Fototrofik *Bacteria* 332
12.3 Nitrifiye Edici *Bacteria* 335
12.4 Kükürt ve Demir Okside Eden *Bacteria* 337
12.5 Hidrojen Okside Eden *Bacteria* 340
12.6 Metanotroflar ve Metilotroflar 342

12.7 *Pseudomonas* ve Pseudomonadlar 345
12.8 Asetik Asit Oluşturan *Bacteria* 348
12.9 Serbest Yaşayan Aerobik Azot Fiksasyonu Yapan *Bacteria* 348
12.10 *Neisseria, Chromobacterium* ve Akraba Gruplar 350
12.11 Enterik *Bacteria* 351
12.12 *Vibrio* ve *Photobacterium* 355
12.13 Rickettsia 357
12.14 Spirilla 359
12.15 Kılıflı Proteobacteria: *Sphaerotilus* ve *Leptothrix* 362
12.16 Tomurcuklanan ve Prostekalı /Saplı *Bacteria* 363
12.17 Kayan Myxobacteria 367
12.18 Sülfat ve Kükürt-İndirgeyen Proteobacteria 371

III ŞUBE 2 VE 3: GRAM-POZİTİF BACTERIA VE ACTINOBACTERIA 374

12.19 Sporlanmayan, Düşük GC'li, Gram Pozitif *Bacteria*: Laktik Asit Oluşturan *Bacteria* ve Akrabaları 374
12.20 Endospor-Oluşturan, Düşük GC'li, Gram-pozitif *Bacteria: Bacillus, Clostridium* ve Akraba Gruplar 379
12.21 Hücre Duvarı Olmayan, GC Oranı Düşük, Gram-Pozitif *Bacteria*: Mycoplasmalar 383
12.22 GC Oranı Yüksek Gram-Pozitif *Bacteria* (Actinobacteria): Coryneform ve Propiyonik Asit Bakterileri 386
12.23 Actinobacteria: *Mycobacterium* 388
12.24 Filamentöz Actinobacteria: *Streptomyces* ve Diğer *Actinomycetes* 390

IV ŞUBE 4: CYANOBACTERIA VE PROCHOLOROPHYTLER 394

12.25 Cyanobacteria 394
12.26 Prochlorophytler ve Kloroplastlar 397

V ŞUBE 5: CHLAMYDIA 399

12.27 Chlamydia 399

VI ŞUBE 6: PLANCTOMYCES/PIRELLULA 401

12.28 Planctomyces: Filogenetik Olarak Kendine Özgü Saplı Bakteri 401

VII ŞUBE 7: VERRUCOMICROBIA 402

12.29 *Verrucomicrobium* ve *Prosthecobacter* 402

VIII ŞUBE 8: FLAVOBACTERIA 403

12.30 *Bacteroides* ve *Flavobacterium* 403

IX ŞUBE 9: CYTOPHAGA GRUBU 404

12.31 *Cytophaga* ve Akraba Gruplar 404

X ŞUBE 10: YEŞİL KÜKÜRT BAKTERİLERİ 405

12.32 *Chlorobium* ve Diğer Yeşil Kükürt Bakterileri 405

XI ŞUBE 11: SPIROCHETES 407

12.33 Spiroketler 407

XII ŞUBE 12: DEINOCOCCI 411

12.34 *Deinococcus/Thermus* 411

XIII ŞUBE 13: YEŞİL KÜKÜRTSÜZ BAKTERİLER 412

12.35 *Choloroflexus* ve Akraba Gruplar 412

XIV ŞUBE 14-16: AŞIRI DALLANMIŞ HİPERTERMOFİLİK BAKTERİLER 414

12.36 *Thermotoga* ve *Thermodesulfobacterium* 414
12.37 *Aquifex, Thermocrinis* ve Akraba Gruplar 415

XV ŞUBE 17 VE 18: NITROSPIRA VE DEFERRIBACTER 416

12.38 *Nitrospira, Deferribacter* ve Akraba Gruplar 416

BÖLÜM 13
PROKARYOTİK ÇEŞİTLİLİK: *ARCHAEA* 419

I FİLOGENİ VE GENEL METABOLİZMA 420

13.1 *Archaea*'nın Filogenetiğine Genel Bakış 420
13.2 *Archaea*'da Enerji Korunumu ve Ototrofi 421

II ŞUBE EURYARCHAEOTA 422

13.3 Ekstrem Halofilik *Archaea* 422
13.4 Metan-Üreten *Archaea*: Metanojenler 426
13.5 *Thermoplasmatales*: *Thermoplasma, Ferroplasma* ve *Picrophilus* 430
13.6 Hipertermofilik Euryarchaeota: Thermococcales ve *Methanopyrus* 432
13.7 Hipertermofilik Euryarchaeota: Archaeglobales 433

III ŞUBE CRENARCHAEOTA 434

13.8 Crenarchaeotların Habitatları ve Enerji Metabolizmaları 434
13.9 Karasal ve Volkanik Habitat Kaynaklı Hipertermofiller: Sulfolobales ve Thermoproteales 436
13.10 Denizaltı Volkanik Habitat Kaynaklı Hipertermofiller: Desulfurococcales 439

IV ŞUBE NANOARCHAEOTA 441

13.11 *Nanoarchaeum* 441

V YÜKSEK SICAKLIK DERECELERİNDE YAŞAM VE EVRİM 442

13.12 Biyomoleküllerin Sıcaklık Stabilitesi 442
13.13 Hipertermofilik *Archaea*, H_2 ve Mikrobiyal Evrim 444

BÖLÜM 14
ÖKARYOTİK HÜCRE BİYOLOJİSİ VE ÖKARYOTİK MİKROORGANİZMALAR 447

I ÖKARYOTİK HÜCRE YAPISI/İŞLEVİ 448

14.1 Ökaryotik Hücre Yapısı ve Nükleus 448
14.2 Solunum ve Fermentasyon Organelleri: Mitokondri ve Hidrojenozom 449
14.3 Fotosentetik Organel: Kloroplast 451
14.4 Endosimbiyoz: Mitokondri ve Kloroplastların Bakterilerle İlişkisi 452

14.5 Diğer Organeller ve Ökaryotik Hücre Yapıları 453

II ÖKARYOTİK GENETİK VE MOLEKÜLER BİYOLOJİNİN ESASLARI 455

14.6 Doğrusal DNA'nın Replikasyonu 455
14.7 Ökaryotik Genetiğe Genel Bakış 456
14.8 RNA Splaysı (Ayıklanması) ve Ribozimler 458

III ÖKARYOTİK MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİK 460

14.9 *Eukarya*'nın Filogenisi 460
14.10 Protozoa 463
14.11 Cıvık Küfler 467
14.12 Funguslar 469
14.13 Algler 472

BÖLÜM 15
MİKROBİYAL GENOMİKLER 479

I GENOMİK KLONLAMA TEKNİKLERİ 480

15.1 Genomik Klonlama Vektörleri ve Dizi Analizi 480
15.2 Genomun Dizi Analizi 483
15.3 Genomun Yorumu 484

II MİKROBİYAL GENOMLAR 485

15.4 Prokaryotik Genomlar; Büyüklük ve ORF İçerikleri 485
15.5 Prokaryotik Genomlar; Biyoinformatik Analizler ve Gen Dağılımları 486
15.6 Ökaryotik Mikrobiyal Genomlar 490

III DİĞER GENOMLAR VE GENOMLARIN EVRİMİ 492

15.7 Organel Genomları 492
15.8 Evrim ve Gen Aileleri 495
15.9 Genomik Madencilik 496

IV GEN İŞLEVİ VE REGÜLASYONU 497

15.10 Proteomikler 497
15.11 Microarray ve Transkriptom 498

BÖLÜM 16
VİRAL ÇEŞİTLİLİK 502

I PROKARYOT VİRÜSLERİ 503

16.1 RNA Bakteriyofajları 503
16.2 İkozahedral Tek Zincirli DNA Bakteriyofajları 505
16.3 Filamentli Tek Zincirli DNA Bakteriyofajları 507
16.4 Çift Zincirli DNA Bakteriyofajları: T7 508
16.5 Mu: Çift Zincirli Transpoze Olabilen DNA Bakteriyofajı 510
16.6 *Archaea* Virüsleri 512

II ÖKARYOT VİRÜSLERİ 513

16.7 Bitki Virüsleri 513
16.8 Pozitif Zincirli RNA'ya Sahip Hayvan Virüsleri: Poliovirüs ve Coronavirüsler 515
16.9 Negatif Zincirli RNA'ya Sahip Hayvan Virüsleri: Rabies (Kuduz), Influenza (Grip) ve Benzeri Virüsler 517
16.10 Çift Zincirli RNA Virüsleri: Reovirüsler 520
16.11 Çift Zincirli DNA'ya Sahip Hayvan Virüslerinin Replikasyonu 521
16.12 Çift Zincirli DNA Virüsleri: Herpesvirüsler 523
16.13 Çift Zincirli DNA Virüsleri: Poxvirüsler 524
16.14 Çift Zincirli DNA Virüsleri: Adenovirüsler 525
16.15 Ters Transkriptaz Kullanan Virüsler: Retrovirüsler ve Hepadnavirüs 526

ÜNİTE III
METABOLİK ÇEŞİTLİLİK VE MİKROBİYAL EKOLOJİ

BÖLÜM 17
METABOLİK ÇEŞİTLİLİK 531

I YAŞAMIN FOTOTROFİK YÖNÜ 533

17.1 Fotosentez 533
17.2 Fotosentetik Pigmentler ve Hücre İçindeki Yerleşimleri 534
17.3 Karotenoidler ve Fikobilinler 537
17.4 Oksijensiz Fotosentez 538
17.5 Oksijenli Fotosentez 543
17.6 Ototrofik CO_2 Fiksasyonu: Calvin Döngüsü 545
17.7 Ototrofik CO_2 Fiksasyonu: Ters Sitrik Asit Döngüsü ve Hidroksipropiyonat Döngüsü 547

II KEMOLİTOTROFİ: İNORGANİK ELEKTRON VERİCİLERİNİN OKSİDASYONUNDAN SAĞLANAN ENERJİ 548

17.8 Inorganik Elektron Vericileri ve Enerjetikleri 548
17.9 Hidrojen Oksidasyonu 549
17.10 İndirgenmiş Kükürt Bileşiklerinin Oksidasyonu 550
17.11 Demir Oksidasyonu 553
17.12 Nitrifikasyon ve Anammoks 555

III YAŞAMIN ANAEROBİK YÖNÜ: ANAEROBİK SOLUNUM 557

17.13 Anaerobik Solunum 557
17.14 Nitrat İndirgenmesi ve Denitrifikasyon İşlemi 558
17.15 Sülfatın İndirgenmesi 560
17.16 Asetojenez 563
17.17 Metanojenez 564
17.18 Ferrik Demir, Mangan, Klorat ve Organik Elektron Alıcıları 568

IV YAŞAMIN ANAEROBİK YÖNÜ: FERMENTASYON VE SİNTROFİ 571

17.19 Fermentasyon: Enerjetik ve Redoks Durumları 571

17.20 Fermentatif Çeşitlilik
17.21 Sintrofi 575

V HİDROKARBON OKSİDASYONU VE ORGANİK BİLEŞİKLERİN KATABOLİZMASINDA O_2'NİN İŞLEVİ 577

17.22 Biyokimyasal Süreçlerde Bir Reaktant Olarak Moleküler Oksijen (O_2) 577
17.23 Hidrokarbon Oksidasyonu 578
17.24 Metanotrofi ve Metilotrofi 579
17.25 Heksoz, Pentoz, ve Polisakkarit Metabolizması 581
17.26 Organik Asit Metabolizması 584
17.27 Mikrobiyal Besinler Olarak Lipitler 585

VI AZOT FİKSASYONU 586

17.28 Nitrojenaz ve Azot Fiksasyonu Süreci 586
17.29 Azot Fiksasyonunun Genetiği ve Regülasyonu 590

BÖLÜM 18
MİKROBİYAL EKOLOJİDE YÖNTEMLER 593

I MİKROBİYAL TOPLULUKLARIN KÜLTÜRE BAĞLI ANALİZİ 594

18.1 Zenginleştirme ve İzolasyon 594
18.2 Saf Kültür İzolasyonu 598

II MİKROBİYAL TOPLULUKLARIN MOLEKÜLER (KÜLTÜRE BAĞLI OLMAYAN) ANALİZİ 600

18.3 Boyama Teknikleriyle Sayım ve Canlılık Tayini 600
18.4 Genetik Boyamalar 602
18.5 Özgül Genlerin Özgül Organizmalara PCR Yoluyla Bağlanması 604
18.6 Çevresel Genomik (Metagenomik) 606

III DOĞADA MİKROBİYAL AKTİVİTE ÖLÇÜMÜ 607

18.7 Radiozotoplar ve Mikroelektrotlar 608
18.8 Kararlı İzotoplar 610

BÖLÜM 19
MİKROBİYAL EKOLOJİ 613

I MİKROBİYAL EKOSİSTEMLER 614

19.1 Popülasyonlar, Birlikler ve Topluluklar 614
19.2 Çevre ve Mikroçevre 615
19.3 Yüzeylerde Mikrobiyal Gelişme ve Biyofilmler 617

II TOPRAK VE TATLI SU MİKROBİYAL HABİTATLARI 619

19.4 Karasal Çevreler 619
19.5 Tatlısu Çevreleri 623

III DENİZ MİKROBİYOLOJİSİ 624

19.6 Denizel Habitatlar ve Mikrobiyal Dağılım 625
19.7 Derin–Deniz Mikrobiyolojisi 627
19.8 Hidrotermal Bacalar 628

IV KARBON VE OKSİJEN DÖNGÜLERİ 632

19.9 Karbon Döngüsü 632
19.10 Sintrofi ve Metanojenez 634
19.11 Geviş Getiren Hayvanlarda Karbon Döngüsü 637

V DİĞER ÖNEMLİ BESİN DÖNGÜLERİ 640

19.12 Azot Döngüsü 641
19.13 Kükürt Döngüsü 642
19.14 Demir Döngüsü 644

VI MİKROBİYAL BİYOREMEDİASYON 647

19.15 Cevherlerden Mikrobiyal Liçing 647
19.16 Civa ve Ağır Metal Dönüşümleri 649
19.17 Petrolün Biyoyıkımı 651
19.18 Ksenobiyotiklerin Biyoyıkımı 653

VII BİTKİLERLE MİKROBİYAL İLİŞKİLER 655

19.19 Bitki Çevresi 656
19.20 Likenler ve Mikoriza 656
19.21 *Agrobacterium* ve Taç Tümörü Hastalığı 659
19.22 Kök Nodül Bakterileri ve Baklagil Bitkileri ile Simbiyoz 661

ÜNİTE IV
İMMÜNOLOJİ, PATOLOJENİZİTE VE KONUKÇU TEPKİLERİ

BÖLÜM 20
MİKROBİYAL ÜREMENİN KONTROLÜ 669

I FİZİKSEL ANTİMİKROBİYAL KONTROL 671

20.1 Isıyla Sterilizasyon 671
20.2 Radyasyonla Sterilizasyon 673
20.3 Filtre ile Sterilizasyon 675

II KİMYASAL ANTİMİKROBİYAL KONTROL 677

20.4 Üremenin Kimyasal Kontrolü 677
20.5 Harici Olarak Kullanılan Kimyasal Antimikrobiyal Maddeler 679

III *IN VIVO* OLARAK KULLANILAN ANTİMİKROBİYAL ETKENLER 681

20.6 Sentetik Antimikrobiyal İlaçlar 681
20.7 Doğal Antimikrobiyal İlaçlar: Antibiyotikler 685
20.8 β-Laktam Antibiyotikleri: Penisillinler ve Sefalosporinler 686
20.9 Prokaryotlardan Elde Edilen Antibiyotikler 687

IV VİRÜSLER VE ÖKARYOTİK PATOJENLERİN KONTROLÜ 688

20.10 Antiviral İlaçlar 688
20.11 Antifungal İlaçlar 691

V ANTİMİKROBİYAL İLAÇ DİRENCİ VE İLAÇ KEŞFİ 692

20.12 Antimikrobiyal İlaç Direnci 692
20.13 Yeni Antimikrobiyal İlaçların Araştırılması 697

BÖLÜM 21
MİKROORGANİZMALARIN İNSANLARLA ETKİLEŞİMLERİ 700

I MİKROORGANİZMALARIN İNSANLARLA YARARLI ETKİLEŞİMLERİ 701
21.1 İnsan-Mikroorganizma Etkileşimlerine Genel Bakış 701
21.2 Derinin Normal Mikrobiyal Florası 703
21.3 Ağız Boşluğunun Normal Mikrobiyal Florası 704
21.4 Sindirim Sisteminin Normal Mikrobiyal Florası 706
21.5 Diğer Vücut Bölgelerinin Normal Mikrobiyal Florası 708

II MİKROORGANİZMALARIN İNSANLARLA ZARARLI ETKİLEŞİMLERİ 710
21.6 Patojenin Konakçıya Girişi 710
21.7 Kolonizasyon ve Gelişme 712
21.8 Virülens 713

III VİRÜLENS FAKTÖRLERİ VE TOKSİNLER 716
21.9 Virülens Faktörler 716
21.10 Ekzotoksinler 716
21.11 Enterotoksinler 719
21.12 Endotoksinler 721

IV ENFEKSİYONDA KONAKÇI FAKTÖRLERİ 722
21.13 Enfeksiyon Yönünden Konakçı Risk Faktörleri 722
21.14 Enfeksiyonlara Karşı Kalıtsal Direnç 723

BÖLÜM 22
İMMÜNOLOJİNİN TEMELLERİ 727

I İMMÜN SİSTEME GENEL BAKIŞ 729
22.1 İmmün Sisteminin Hücre ve Organları 729
22.2 Doğal İmmün Yanıt 732
22.3 Yangı, Ateş ve Septik Şok 735
22.4 Adaptif İmmün Yanıt 736

II ANTİJENLER, T HÜCRELERİ VE HÜCRESEL İMMÜNİTE 738
22.5 İmmünojenler ve Antijenler 738
22.6 Antijenin T Lenfositlere Sunulması 739
22.7 T-Sitotoksik Hücreler ve Doğal Katil Hücreler 742
22.8 T-Yardımcı Hücreler: İmmün Yanıtın Aktive Edilmesi 743

III ANTİKORLAR VE İMMÜNİTE 743
22.9 Antikorlar (İmmünoglobulinler) 744
22.10 Antikor Üretimi 747
22.11 Kompleman, Antikorlar ve Patojenin Yıkımı 749

IV İMMÜNİTE VE ENFEKSİYÖZ HASTALIĞIN ÖNLENMESİ 751
22.12 Doğal İmmünite 751
22.13 Yapay İmmünite 752
22.14 Yeni İmmünizasyon Stratejileri 754

V İMMÜN YANIT HASTALIKLARI 755
22.15 Allerji, Aşırı Duyarlılık ve Otoimmünite 755
22.16 Süper Antijenler 758

BÖLÜM 23
MOLEKÜLER İMMÜNOLOJİ 761

I RESEPTÖRLER VE İMMÜNİTE 762
23.1 Doğal İmmünite ve Patern Tanıma 762
23.2 Adaptif İmmünite ve İmmünoglobulin Süperfamilyası 763

II BAŞLICA DOKU UYGUNLUK KOMPLEKSİ (MHC) 765
23.3 MHC Protein Yapısı 765
23.4 MHC Genleri ve Polimorfizm 767

III ANTİKORLAR 767
23.5 Antikor Proteinleri ve Antijen Bağlama 767
23.6 Antikor Genleri ve Çeşitlilik 768

IV T-HÜCRE RESEPTÖRLERİ 770
23.7 TCR Proteinleri ve Antijen Bağlama 770
23.8 TCR Genleri ve Çeşitlilik 771

V İMMÜNİTEDE MOLEKÜLER SİNYALLER 771
23.9 Klonal Seçim ve Tolerans 772
23.10 İkincil Sinyaller 773
23.11 Sitokinler ve Kemokinler 775

BÖLÜM 24
TANISAL MİKROBİYOLOJİ VE İMMÜNOLOJİ 778

I GELİŞMEYE BAĞLI TANI YÖNTEMLERİ 779
24.1 Klinik Örneklerden Patojenlerin İzolasyonu 779
24.2 Gelimeye Bağlı Tanı Yöntemleri 785
24.3 Antimikrobiyal İlaç Duyarlılık Testi 788
24.4 Mikrobiyoloji Laboratuvarında Güvenlik 789

II İMMÜNOLOJİ VE KLİNİK TANI YÖNTEMLERİ 792
24.5 Enfeksiyöz Hastalıklar İçin İmmünoassayler 792
24.6 Poliklonal ve Monoklonal Antikorlar 795
24.7 *İn vitro* Antijen-Antikor Reaksiyonları: Seroloji 797
24.8 Aglütinasyon 799
24.9 Floresan Antikorlar 801
24.10 Enzim Bağlı İmmünosorbent Assay ve Radyoimmünassay 804
24.11 İmmünoblot Yöntemleri 808

III MOLEKÜLER VE GÖRSEL TANI YÖNTEMLERİ 810
24.12 Nükleik Asit Yöntemleri 810
24.13 Tanısal Viroloji 812

ÜNİTE V
MİKROBİYAL HASTALIKLAR

BÖLÜM 25
EPİDEMİYOLOJİ 817

I EPİDEMİYOLOJİNİN PRENSİPLERİ 818
25.1 Epidemiyoloji Bilimi 818
25.2 Epidemiyoloji Sözlüğü 819
25.3 Hastalık Rezervuarları ve Epidemiler 821
25.4 Enfeksiyöz Hastalık Bulaşması 824
25.5 Konukçu Topluluğu 825

II GÜNCEL EPİDEMİLER 827
25.6 AIDS Pandemiği 828
25.7 Hastane Kaynaklı (Nozokomiyal) Enfeksiyonlar 829
25.8 Şiddetli Akut Solunum Yetmezliği Sendromu 830

III EPİDEMİYOLOJİ VE HALK SAĞLIĞI 831
25.9 Hastalıkların Kontrolünde Halk Sağlığı Önlemleri 831
25.10 Küresel Sağlık Değerlendirmeleri 835
25.11 Yeni Görülen ve Yeniden Görülen Enfeksiyöz Hastalıklar 836
25.12 Biyolojik Savaş ve Biyolojik Silahlar 842
25.13 Biyolojik bir Silah Olarak Şarbon 844

BÖLÜM 26
İNSANDAN İNSANA BULAŞAN MIKROBİYAL HASTALIKLAR 847

I HASTALIKLARIN HAVA YOLU İLE BULUŞMASI 848
26.1 Hava Yolu ile Taşınan Patojenler 849
26.2 Streptokokkal Hastalıklar 850
26.3 *Corynebacterium* ve Difteri 852
26.4 *Bordetella* ve Boğmaca 853
26.5 *Mycobacterium*, Verem ve Cüzzam 854
26.6 *Neisseria meningitidis*, Menenjit ve Menengokoksemi 857
26.7 Virüsler ve Solunum Yolu Enfeksiyonları 858
26.8 Soğuk Algınlığı ve Grip (İnfluenza) 861

II DOĞRUDAN TEMAS İLE GEÇEN HASTALIKLAR 864
26.9 *Staphylococcus* 864
26.10 *Helicobacter pylori* ve Mide Ülserleri 866
26.11 Hepatit Virüsleri 867

III CİNSEL YOLLA BULAŞAN ENFEKSİYONLAR 869
26.12 Bel Soğukluğu ve Frengi 870
26.13 Chlamydia, Herpes ve Trichomoniasis 873
26.14 Kazanılmış Bağışıklık Yetmezliği Sendromu: AIDS ve HIV 875

BÖLÜM 27
HAYVANLARLA TAŞINAN, ARTHROPODLARLA TAŞINAN VE TOPRAK KAYNAKLI MIKROBIYAL HASTALIKLAR 885

I HAYVANLAR ARACILIĞIYLA TAŞINAN HASTALIKLAR 886
27.1 Kuduz 886
27.2 Hantavirüs Pulmoner Sendromu 888

II ARTHROPODLAR ARACILIĞIYLA TAŞINAN HASTALIKLAR 890
27.3 Riketsiyal Hastalıklar 890
27.4 Lyme Hastalığı 892
27.5 Malarya (Sıtma) 895
27.6 Batı Nil Virüsu 898
27.7 Veba 899

III TOPRAK KAYNAKLI HASTALIKLAR 901
27.8 Patojenik Funguslar 901
27.9 Tetanoz 903

BÖLÜM 28
ATIKSU ARITIMI, SU ARITIMI VE SU KAYNAKLI MİKROBİYAL HASTALIKLAR 906

I ATIKSU MİKROBİYOLOJİSİ VE SU ARITIMI 907
28.1 Halk Sağlığı ve Su Kalitesi 907
28.2 Atıksu ve Kanalizasyon Suyu Arıtımı 909
28.3 İçme Suyu Arıtımı 913

II SU KAYNAKLI MİKROBİYAL HASTALIKLAR 914
28.4 Sudan Bulaşan Enfeksiyonların Kaynakları 915
28.5 Kolera 916
28.6 Giyardiyaz ve Kriptosporidyaz 917
28.7 Lejyonelloz (Lejyoner Hastalığı) 919
28.8 Tifoid Ateş ve Diğer Su Kaynaklı Hastalıklar 920

BÖLÜM 29
GIDALARIN KORUNMASI VE GIDA KAYNAKLI MİKROBİYAL HASTALIKLAR 923

I GIDALARIN KORUNMASI VE MİKROBİYAL GELİŞME 924
29.1 Mikrobiyal Gelişme ve Gıdaların Bozulması 924
29.2 Gıdaların Korunması 925
29.3 Fermente Gıdalar 928

II MİKROBİYAL ÖRNEKLEME VE GIDA ZEHİRLENMESİ 930
29.4. Gıda Kaynaklı Hastalıklar ve Mikrobiyal Örnekleme 930
29.5 Stafilokokkal Gıda Zehirlenmesi 931
29.6 Klostridiyal Gıda Zehirlenmesi 932

III GIDA ENFEKSİYONU 934
29.7 Salmonellozis 934

29.8 Patojenik *Escherichia coli* 935
29.9 *Campylobacter* 937
29.10 Listeriozis 937
29.11 Gıda Orijinli Diğer Enfeksiyon Hastalıkları 938

ÜNİTE VI
ENDÜSTRİ VE ARAŞTIRMALARDA ARAÇ OLARAK MİKROORGANİZMALAR

BÖLÜM 30
ENDÜSTRİYEL MİKROBİYOLOJİ 941

I **ENDÜSTRİYEL MİKROORGANİZMALAR VE ÜRÜN OLUŞUMU** 942
30.1 Endüstriyel Mikroorganizmalar ve Ürünleri 942
30.2 Primer ve Sekonder Metabolitler 943
30.3 Büyük-Ölçekli Fermentasyonun Özellikleri 945
30.4 Fermentasyon Ölçeklemesi 946

II **SAĞLIK ENDÜSTRİSİ İÇİN ÖNEMLİ ENDÜSTRİYEL ÜRÜNLER** 947
30.5 Antibiyotikler: İzolasyon ve Karakterizasyon 947
30.6 Penisillinler ve Tetrasiklinlerin Endüstriyel Üretimi 951
30.7 Vitaminler ve Amino Asitler 953
30.8 Steroidler ve Biyotransformasyon Süreci 955
30.9 Endüstriyel Ürün Olarak Enzimler 955

III **GIDA VE İÇECEK ENDÜSTRİSİNDE ÖNEMLİ ENDÜSTRİYEL ÜRÜNLER** 958
30.10 Alkol ve Alkollü İçecekler 958
30.11 Sirke Üretimi 963
30.12 Sitrik Asit ve Diğer Organik Bileşikler 964
30.13 Gıda ve Gıda Katkısı Olarak Maya 965
30.14 Gıda Kaynağı Olarak Şapkalı Mantarlar 966

BÖLÜM 31
GENETİK MÜHENDİSLİĞİ VE BİYOTEKNOLOJİ 969

I **GENETIK MÜHENDİSLİĞİ TEKNİKLERİ** 970
31.1 Genetik Mühendisliğini Belirleyen Prensiplere Kısa Bir Bakış 970
31.2 Klonlama Vektörleri İçin Konaklar 972
31.3 Doğru Klonu Bulma 973
31.4 Özelleşmiş Vektörler 975
31.5 Memeli Genlerinin Bakterilerde İfadesi 978

II **GENETİK MÜHENDİSLİĞİNİN PRATİK UYGULAMALARI** 981
31.6 İnsülin Üretimi: Ticari Biyoteknolojinin Başlangıcı 981
31.7 Diğer Memeli Proteinleri ve Ürünleri 983
31.8 Genetik Olarak Tasarlanmış Aşılar 984
31.9 Hayvan ve İnsan Genetiğinde Genetik Mühendisliği 986
31.10 Bitkisel Tarımında Genetik Mühendisliği: Transgenik Bitkiler 989

EK 1
MİKROBİYAL BİYOENERJETİKTEKİ ENERJİ HESAPLAMALARI A-1
EK 2
***BERGEY'S MANUAL OF SYSTEMATIC BACTERIOLOGY*, İKİNCI BASKI** A-5
SÖZLÜK G-1
İNDEKS I-1

ÖNSÖZ

Mikrobiyoloji çağında yaşıyoruz. Neredeyse hergün, yeni ortaya çıkmış enfeksiyonlar, yeni organizmalar ve keşifleri kolaylaştıracak yeni araçlar gibi, bu heyecan verici bilim dalında yapılmış yeni keşiflerin haberlerini alıyoruz. Günümüzde mikrobiyoloji bilimi işte böylesine bir hızda ilerlemekte. Brock Mikroorganizmaların Biyolojisi'nin (BMB) on birinci baskısı ile sizlere bugünkü mikrobiyolojinin en güncel resmini sunuyoruz.

Bu kitabın temelleri 35 yıldan daha uzun bir geçmişe dayanmaktadır. Thomas D. Brock tarafından Mikroorganizmalar Biyolojisi'nin ilk baskısının (Prentice Hall, 1970) yayımlanmasından beri bu kitabın yegane amacı modern bilim çerçevesinde mikrobiyolojinin prensiplerini sunmak olmuştur. BMB'nin 11. baskısı da bu geleneği devam ettirmektedir ve daha önceki on baskının sahip olduğu doğruluk ve yetki ile aynı düzeyde bir anlatımı vardır.

Günümüz mikrobiyolojisi hem öğrencilere hem de öğretmenlere daha önce görülmemiş miktarda yeni talepler yüklemektedir. Alandaki mevcut bilginin boyutlarının devasa olmasının yanında, destekleyici bilimler hakkında sahip olunması gereken bilgi altyapısı da kaydadeğer büyüklüktedir ve mikrobiyolojiye giriş niteliğindeki dersler artık kaynak noktalarından patlamaya başlamıştır. BMB'nin 11. baskısının yazarları da bu sorunların son derece farkında olarak, içerisinde temel prensiplerin öne çıkarılıp vurgulandığı, detayların tamamlayıcı nitelikte olduğu ve destekleyici kavramların da muntazam bağdaştırıldığı bir mikrobiyoloji kitabı ortaya koymak için özel gayret sarfetmişlerdir. Umarız ki bu görüşlerimize katılacaksınız.

Onbirinci Baskıda Neler Yeni?

Geçmişte BMB'den ders anlatmış olanlar bu yeni baskının da daha önceden tanıdıkları dostları olduğunu göreceklerdir. Bununla birlikte, daha önceki baskılara kıyasla, öğretmenler BMB'nin 11. baskısında daha öğretilebilir bir ders kitabı, öğrenciler ise çok daha paha biçilmez bir öğrenme kaynağı bulacaklardır.

Pedagojik açıdan, BMB'nin 11. baskısı günümüzün görsel öğrenicisine göre tasarlanmıştır. BMB'nin 11. baskısı tasarım açısından onuncu baskının kaldığı noktadan devam etmektedir, ancak sunuş, renk kullanımı ve sanat bağlamlarında yenilikler getirmektedir. Bölümler, kitabın ilk baskısından bu yana olduğu gibi, oldukça mantıklı ve kolaylık sağlayıcı bir sistem olan numaralandırılmış taslak sistemine göre düzenlenmiştir. Ancak bu baskıda herbir bölümü bazı kavramları birleştirerek daha kolay hazmedilir lokmalar haline getiren ve bağlantılı bilgileri bir yere toplayan çok sayıda bloklar halinde düzenledik. Her zamanki gibi, öğrencinin temel terimler sözlüğü olan terim açıklamalarını, mikrobiyoloji dilini ait olduğu yere, yani en öne ve merkeze yerleştirmek maksadıyla, herbir bölümün en başına koyduk. Kavramların gözden geçirilmesi oldukları gibi kaldı, ancak artık açık kırmızı renkte bir "Dur!" işareti ile gösterilmekte. Kavramların Gözden Geçirilmesi, öğrencilerin yeni bir kavrama geçmeden önce durup öğrenmiş olduklarını gözden geçirmelerini ve değerlendirmelerini işaret etmektedir. Alışılagelmiş olduğu üzere, herbir bölümün sonunda yeniden gözden geçirme ve uygulamaya yönelik zorlayıcı çalışma soruları yer almaktadır. Kitabın sonundaki kapsamlı sözlük ve indeks kısımları ile de paket tamamlanmaktadır.

Geleneksel olarak "kutucuk" içerisinde sunulan materyal, BMB'nin 11. baskısında yeni olan Mikrobiyal Ek Bilgi içerisinde sunulmaktadır. Resimlerle zenginleştirilmiş bu kısımlar, ilgili bölümün ana temasına ilişkin destekleyici materyalin "eğlenceli okumaları" olarak tasarlanmış ve yazılmıştır. BMB'nin 11. baskısında tablolar da içerdikleri bilginin daha kolay takip edilebilir ve daha iyi düzenlenmiş olmasını sağlamak için tamamen yeniden tasarlanmıştır. Mikrobiyoloji gibi bir bilim büyük oranda tablo halinde sunulan kaynaklara dayandığından, bu yeni tablo tasarımının hem öğrenciler hem de öğretmenler tarafından takdir edileceğini düşünüyoruz. Pedagojik anlamda faydalı olacak diğer birçok unsur da okuyucular bu kitap içerisinde ilerledikçe kolayca görülecektir. Bunlar arasında daha belirgin başlıklar, okuyucuyu metinden şekillere ve sonrasında tekrar metne yönlendiren gözden kaçmayacak kırmızı noktalar ve bölüm numarasına göre cevapları sunulmuş tekrar soruları sayılabilir. Bu son unsur öğrencilerin soruları cevaplamadan önce hafızalarını tazelemelerini kolaylaştıracaktır.

Kitabın tamamına, herbir sanatsal parçanın eskisinden farklı bir sanat stüdyosu tarafından yeniden tasarlanmış olan biçimlerinden oluşan bir sanatsal program uygulanmıştır. Ortaya çıkan sonuç ise eski baskılara kıyasla sadece daha parlak ve daha belirgin olmakla kalmayıp, aynı zamanda daha renkli, çekici, istikrarlı ve öğretici nitelikte olan sanatsal parçalar olmuştur. Bunun da ötesinde, onbirinci baskıda ilk defa yüksek kaliteli ve parlak kağıt kullanılmış olması, bu kitapta ilk baskısından itibaren geleneksel olarak yer almış olan olağanüstü fotomikrografların ve diğer fotoğrafların en iyi şekilde basılmasını sağlamıştır. Okuyucular sanatsal parçaların içerisine yerleştirimiş olan "enerji okları" gibi yeni pedagojik yardımları kolayca farkedeceklerdir. ATP üreten veya tüketen hücresel reaksiyonlar sıklıkla kilit öneme sahiptir. Açık kırmızı renkte dalgalı oklar ile gösterilen enerji okları bu reaksiyonları temsil etmekte ve bunları öğrencinin dikkatine sunmaktadır.

BMB'nin 11. baskısı aslında bir önceki baskıdan daha kısa olmasına rağmen, önemli miktarda yeni bir içerik sunmaktadır. Her bölümde yeni içerik olduğu görülecektir, ancak biz burada okuyucuyu bekleyen yeni kısımlara ilişkin kısa bir fikir vermek için şu listeyi sunabiliriz: Oksijenin Toksik Formları (Bölüm 6); Sigma Faktörlerinin Çeşitliliği, Konsensus Dizinleri ve Diğer RNA Polimeraslar (Bölüm 7); Stringent yanıt (Bölüm 8); RNA Düzenlenmesi ve Riboswitches (Bölüm 8); Sub-Viral Partiküller (Bölüm 9); İlkel Yaşam Formlarının Karbon ve Enerji Metabolizması (Bölüm

11); *Nanoarchaeum* Biyolojisi (Bölüm 13); RNA'nın İşlenmesi ve Ribozimler (Bölüm 14); Lineer DNA Replikasyonu (Bölüm 14); Genom Yorumlaması (Bölüm 15); Prokaryotlarda Biyoinformatik Analizler ve Gen Dağılımı (Bölüm 15); Microarray ve Transkriptom (Bölüm 15); *Archaea* Virüsleri (Bölüm 16); Çevresel Genomik (Bölüm 18); Konukçu Enfeksiyon Risk Faktörleri (Bölüm 21); İnflamasyon, Ateş ve Septik Şok (Bölüm 22); Doğal Bağışıklık (Bölüm 22); Reseptörler ve Bağışıklık (Bölüm 23); Batı Nil Virüsü (Bölüm 27); Mikrobiyal Örnekleme ve Gıda Zehirlenmesi (Bölüm 29); Ağır Akut Solunum Yolu Yetersizliği Sendromu (SARS) (Bölüm 25); Biyolojik Silah Olarak Şarbon (Bölüm 25) ve Fermente Gıdalar (Bölüm 29).

BMB'nin 11. baskısı aynı zamanda çok sayıda ek materyal ile birlikte sunulmaktadır. Bunlar arasında çevrimiçi ortam kaynakları (metin içerisinde bir işaret ile gösterilmiştir), alıştırma sınav soruları ve içeriğe ilişkin ek kaynaklar içeren bir web sitesi (***www.prenhall.com/madigan***) bulunmaktadır. Öğretmenler için, sınıfiçi öğrenme faaliyetlerinin düzenlenmesini kolaylaştırmak üzere kitaptaki tüm tabloların ve şekillerin PowerPoint türünde hazırlanmış dosyasını içeren bir CD de mevcuttur. Sınıf içerisinde yansı cihazı kullananlar için bunlar asetat kağıdına basılmış halde de mevcuttur. Kısacası, BMB'nin 11. baskısının öğretmen paketinde açık, dikkat çekici ve uyarıcı sunumlar hazırlamak için gerekli olan tüm araçlar sunulmaktadır.

Teşekkür

Elinizdeki kitap birçok insanın ortak çalışmasının bir ürünüdür. Bunlar arasında Prentice Hall/Pearson Yayınevi'nin çok sayıda çalışanı, ancak bilhassa Baş Editör Gary Carlson ve yardımcıları Susan Zeigler ile Jennifer Hart ve olağanüstü prodüksiyon editörümüz Debra Wechsler ilk sırada gelmektedir. Bu baskının ışık kaynağı Gary oldu ve Susan/Jennifer ve Debra da projenin hızını koruyarak sırasıyla inceleme ve prodüksiyon aşamalarında "tutkal" görevi gördüler. Ed Thomas (prodüksiyon) da projenin ilk dönemlerinde sağladığı prodüksiyon yardımından dolayı teşekkürlerimize şayandır. Yazarlar tasarım ve sanat editörlerimiz olan Kenny Beck ve Jay McElroy'a ve muhteşem medya editörlerimiz Patrick Shriner ve Crissy Dudonis'e katkılarından dolayı en içten teşekkürlerini sunarlar. Tüm metnin mükemmel kopya düzenlemesi de Jane Loftus (Clackamas, OR) tarafından yapılmıştır.

Yazarlar projenin başlangıcındaki kapsamlı ve son derece faydalı katkısından dolayı geliştirme editörü Jon Haber'a (New York, NY) ve elektronik fotoğraflar için sağladığı uzman yardımından dolayı Deborah O. Jung'a (Carbondale, IL) da teşekkürlerini sunarlar. BMB'nin 11. baskısının yayımlanması sürecinde doğruluk kontrollerini yaparak mükemmel katkı sağlamış olan Elizabeth McPherson (University of Tennessee) ve David Crowley'e (University of California-Riverside) gönülden müteşekkirdir. Almanya Göttingen Üniversitesi'nden ve Jena şehrindeki Carl Zeiss'dan Gernot Arp ve Christian Boeker'e de kitabın kapaklarını süsleyen harikulade mikrograf için özel teşekkürlerimizi sunarız.

Her iki yazar da, lisansüstü öğrencilerine, meslektaşlarına ve Mikrobiyoloji Bölümü'ndeki personele bu çapta bir kitabın hazırlanması süresince sağlamış oldukları yardım ve göstermiş oldukları sabır için ayrıca teşekkürlerini sunarlar. BMB'nin 11. baskısının hazırlanması ve yayımlanması sürecinde kendilerinden uzakta kalmış olduğumuz sayısız saatler boyunca hiç tükenmeyen sabırlarından dolayı eşlerimiz Nancy ve Judy'ye de minnettarız. Göstermiş oldukları sevgi, anlayış ve destek yazarların böylesine büyük bir proje için gerekli zamanı ayırabilmelerine olanak sağlamıştır.

Son olarak, taslak metne okuyucu olarak katkıda bulunmuş ya da 11. baskı için yeni fotoğraflar sağlamış olan sayısız insana da nazik yardımlarından dolayı son derece minnettar olduğumuzu ifade etmek isteriz. İsimleri aşağıda sunulmuştur.

Laurie Achenbach, *Southern Illinois University*
Richard Adler, *University of Michigan-Dearborn*
Karen Aguirre, *Clarkson University*
Stephen Aley, *University of Texas-El Paso*
Mary Allen, *Hartwick College*
Ricardo Amils, *University Autonoma, Madrid, Spain*
Robert Andrews, *Iowa State University*
Michael Benedik, *Texas A&M University*
David Boone, *Portland State University*
Matt Boulton, *University of Michigan*
Cheryl Broadie, *Southern Illinois University*
Jean Cardinale, *Alfred University*
Jannice Carr, *Centers for Disease Control and Prevention-Atlanta*
David Clark, *Southern Illinois University*
Rhonda Clark, *University of Calgary*
Morris Cooper, *Southern Illinois University School of Medicine*
David Crowley, *University of California-Riverside*
Mark Davis, *University of Evansville*
Michael Davis, *Central Connecticut State University*
Dennis Dean, *Virginia Tech University*
Arvind Dhople, *Florida Institute of Technology*
Biao Ding, *Ohio State University*
Rodney Donlan, *Centers for Disease Control and Prevention-Atlanta*
Paul Dunlap, *University of Michigan*
Paul Edmonds, *Georgia Institute of Technology*
Elizabeth Ehrenfeld, *Southern Maine Community College*
Bruce Farnham, *Metropolitan State University-Denver*
Rebecca Ferrell, *Metropolitan State University-Denver*
Doug Fix, *Southern Illinois University*
Niels-Ulrik Frigaard, *Pennsylvania State University*
George Garrity, *Michigan State University*
Claire Geslin, *Université de Bretagne Occidentale, France*
Eric Grafman, *Centers for Disease Control and Prevention-Atlanta*
Bonita Glatz, *Iowa State University*
Ricardo Guerrero, *University of Barcelona, Spain*
John Haddock, *Southern Illinois University*

Martin Hanczyc, *Harvard University*
Ernest Hanning, *University of Texas-Dallas*
Pamela Hathorn, *Midwestern University*
John Hayes, *Woods Hole Oceanographic Institution*
Lee Hughs, *University of North Texas*
Michael Ibba, *Ohio State University*
Johannes Imhoff, *Universität Kiel, Germany*
Mary Johnson, *Indiana University*
Deborah Jung, *Southern Illinois University*
Judy Kandel, *California State University-Fullerton*
Patrick Keeling, *University of British Columbia*
Joan Kiely, *SUNY-Stonybrook*
Arthur Koch, *Indiana University*
Allan Konopka, *Purdue University*
Vikki Kourkouliotis, *National Renewable Energy Laboratory*
Susan F. Koval, *University of Western Ontario*
Harry Kurtz, *Clemson University*
Sharon Long, *University of Massachusetts*
Bonnie Lustigman, *Montclair State University*
Mark Martin, *Occidental College*
William McCleary, *Brigham Young University*
Elizabeth McPherson, *University of Tennessee*
Ohad Medalia, *Max Planck Institut für Biochemie, Germany*
Jianghang Meng, *University of Maryland*
Eric Miller, *North Carolina State University*
Abraham Minisky, *Weizmann Institute of Science, Israel*
Ivan Oresnik, *University of Manitoba*
Jörg Overmann, *University of Munich, Germany*
Norm Pace, *University of Colorado*
Jack Parker, *Southern Illinois University*
Laurence Pelletier, *Max Planck Institut für Cell Biologie und Genetiks, Germany*
Michael Pfaller, *University of Iowa*
Reinhard Rachel, *Universität Regensburg, Germany*
Michael Rappe, *Oregon State University*
Chris Rensing, *University of Arizona*
Frank Roberto, *Idaho Environmental and Engineering Labs*
Craig Rouskey, *Southern Illinois University*
Jill Zeilstra Ryalls, *Oakland University*
Herb Schelhorn, *McMaster University*
Bernhard Schink, *Universität Konstanz, Germany*
Heide Schulz, *University of California-Davis*
Kate Scow, *University of California-Davis*
James Shapleigh, *Cornell University*
Jolynn Smith, *Southern Illinois University*
Jerry Sipe, *Anderson University*
Nancy Spear, *Murphysboro, Illinois*
Julia Thompson, *American Society for Microbiology*
Sonia Tiquia, *University of Michigan*
David Tison, *Multicare Health Systems*
Paul Tomasek, *California State University-Northridge*
Amy Treonis, *Creighton University*
Michael Wagner, *University of Vienna, Austria*
David Ward, *Montana State University*
Joy Watts, *University of Maryland*
Mary Watwood, *Northern Arizona University*
Susan Wells, *Affymetrix, Santa Clara, California*
Carl Woese, *University of Illinois*
Gordon Wolfe, *California State University-Chico*
Alexander Worden, *University of Miami*
Mark Young, *Montana State University*
Stephen Zinder, *Cornell University*

Bu kitaptaki her türlü hatadan yalnızca yazarlar sorumludur. Eski baskılarda okuyucular hatalar gördüklerinde bize iletme nezaketinde bulundular. BMB'nin 11. baskısının hatasız olduğunu ümit etmemize rağmen, kabul etmek gerekir ki; hiçbir kitap hatasız değildir. Bu nedenle okuyuculardan hatalar ya da diğer konularla ilgili olarak yazarlardan herhangi birisi ile temas kurmalarını bekliyoruz. Umarız BMB'nin 11. baskısını beğenirsiniz.

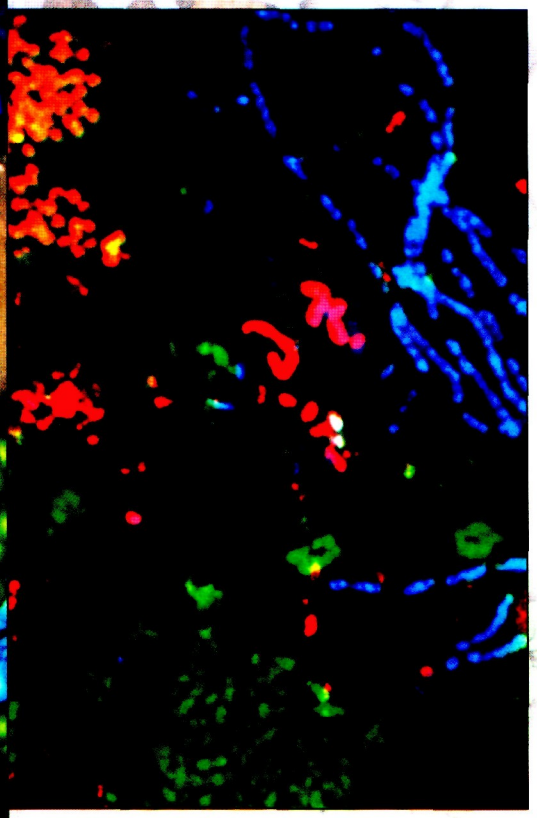
Michael T. Madigan *(madigan@micro.siu.edu)*
John M. Martinko *(martinko@micro.siu.edu)*

BROCK

MİKROORGANİZMALARIN BİYOLOJİSİ

1

MİKROORGANİZMALAR VE MİKROBİYOLOJİ



Mikroorganizmalar mikroskobiktir ve insanlar gibi topluluk halinde yaşayan bağımsız canlı hücrelerdir.

I MİKROBİYOLOJİYE GİRİŞ 3

1.1 Mikrobiyoloji **3**
1.2 Hücre olarak Mikroorganizmalar **3**
1.3 Mikroorganizmalar ve Doğal Çevreleri **5**
1.4 Mikroorganizmaların İnsanlara Etkisi **6**

II MİKROBİYOLOJİDE KEŞİF YOLLARI 9

1.5 Mikrobiyolojinin Tarihsel Kökleri: Hooke, van Leeuwenhoek ve Cohn **9**
1.6 Pasteur, Koch ve Saf Kültürler **11**
1.7 Mikrobiyal Çeşitlilik ve Genel Mikrobiyolojinin Yükselişi **16**
1.8 Mikrobiyolojinin Modern Dönemi **17**

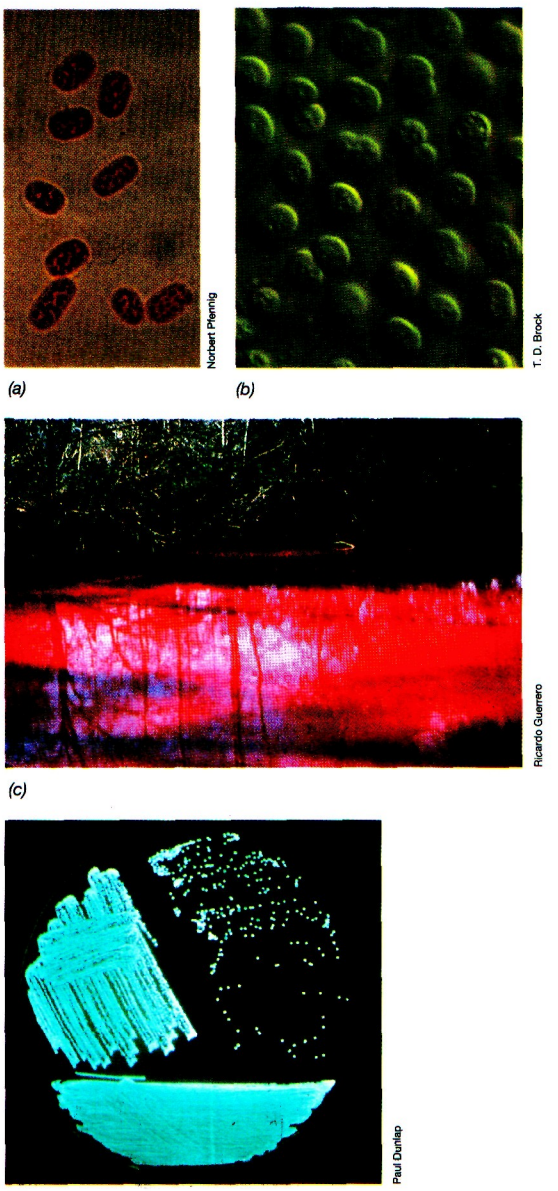
BÖLÜMLE İLGİLİ SÖZLÜK

DNA deoksiribonükleik asit, hücrelerin ve bazı virüslerin kalıtsal materyali
Ekoloji organizmaların doğal çevrelerinde incelenmesi
Ekosistem organizmalar ve cansız çevresi
Enzim kimyasal reaksiyonları hızlandırmak için görev yapan protein yapısında katalizör
Habitat mikrobiyal bir popülasyonun bulunduğu çevredeki bölge
Hücre canlının temel birimi
Koch postulatları belli bir mikroorganizmanın belli bir hastalığa neden olduğunu kanıtlamak için yapılan bir seri kriter
Metabolizma bir hücredeki bütün biyokimyasal reaksiyonlar
Mikroorganizma virüsler dahil bir hücre veya hücre topluluğundan oluşmuş mikroskobik bir organizma
Patojen hastalık yapıcı bir mikroorganizma
RNA ribonükleik asit; protein sentezinde mesajcı RNA, transfer RNA ve ribozomal RNA olarak yer alır
Saf kültür tek tip mikroorganizma içeren kültür
Sitoplazma çekirdek hariç (eğer varsa) bir hücrenin hücre zarıyla çevrelenmiş sıvı kısmı
Spontan generasyon canlı organizmaların cansız maddeden oluşabileceği hipotezi
Steril tüm canlı organizmalardan ve virüslerden arınmış
Zenginleştirme kültür özgül kültür ortamları ve inkübasyon koşullarını kullanarak mikroorganizmaların doğadan izolasyonu için bir yöntem

Mikrobiyolojiye -mikroorganizmaların çalışılmasına- hoş geldiniz. Mikroorganizmalar, tek hücre veya hücre toplulukları şeklindeki mikroskobik canlıları ve mikroskobik olan ancak hücre yapısında olmayan virüsleri içeren büyük ve çeşitlilik gösteren bir gruptur.

Mikrobiyolojinin amacı nedir? Mikrobiyoloji, özellikle oldukça temel ve pratik öneme sahip büyük bir hücre grubu olan bakteriler esas olmak üzere, hücreleri ve hücrelerin nasıl çalıştıklarını konu eder (Şekil 1.1•). Mikrobiyoloji, mikrobiyal çeşitlilik ve evrimi, farklı mikroorganizmaların nasıl ve niçin ortaya çıktıklarını konu edinir. Mikrobiyoloji, toplumda, insan vücudu, hayvan ve bitkilerde, genel olarak dünyamızda mikroorganizmaların işlevi ile ilgilidir. Öyle veya böyle, mikroorganizmalar dünyamız üzerindeki tüm diğer yaşam formlarını etkiler (Şekil 1.1*b*) ve bundan dolayı mikrobiyoloji bilimi büyük öneme sahiptir.

Mikroorganizmalar, hayvan ve bitki gibi makroorganizma hücrelerinden farklıdırlar. Bitki ve hayvan hücreleri doğada tek başlarına yaşayamazlar ve hayvanların organ sistemleri veya bitkilerin yapısal kısımlarında olduğu gibi sadece çok hücreli yapıların birer parçası olarak bulunurlar. Aksine, mikroorganizmaların çoğu, aynı veya farklı tip olsun, büyüme, enerji üretimi ve üreme gibi yaşamsal süreçleri diğer hücrelerden bağımsız olarak yerine getirirler.



• **Şekil 1.1 Mikroorganizmalar** (a,b). Bir mikrobiyal hücre bağımsız olarak bulunabilir. Fototrofik (fotosentetik) mikroorganizmalar olan (a) *mor bakteriler* (b) ve *siyanobakteriler*'in fotomikrografları görülmektedir. Mor bakteriler dünya üzerindeki ilk fototroflar arasında yer alır iken siyanobakteriler oksijen üreten ilk fototroflardı. Siyanobakteriler atmosfere oksijen salarak yüksek yaşam formlarının evrimi için ortam oluşturmuşlardır(c,d). Bakteri hücreleri, doğada veya laboratuvarda oldukça büyük popülasyonlar oluşturmak üzere çoğalabilirler. (c) İspanya'da küçük bir göl olan Ciso Gölünde mor bakterilerin neden olduğu yoğun üreme(bkz. Şekil 1.15) ve (d) laboratuvar kültüründe üremiş *Photobacterium leiognathi* bakterisinin biyolüminesan (ışık yayan) hücreleri görülmektedir. 1 ml göl suyu (c) veya plaktan alınan bir koloni (d) 1 milyardan (10^9) fazla bağımsız hücre bulundurur.

Bu bölümde mikroorganizma dünyasına yolculuğumuz başlıyor. Mikroorganizmaların ne olduklarını ve yaşam üzerine etkilerini keşfedeceğiz. Gelecek bölümde ayrıntıları ile ele alacağımız mikroorganizmaların yapısı ve evrimini değerlendirmek için bir giriş yapacağız. Ayrıca, bilimsel bir keşif sürecinde mikrobiyolojiyi tarihsel perspektife yerleştireceğiz. Daha önceki mikrobiyologlar ve günümüzde çalışan bilim insanlarının son derece önemli katkıları sayesinde, mikrobiyolojinin tıp, tarım ve çevre alanlarına yayıldığını görebiliriz.

I MİKROBİYOLOJİYE GİRİŞ

Bu bölümün ilk 4 kısmında mikrobiyoloji konusuna giriş yaparak, mikroorganizmalara hücre olarak bakacak, doğada mikroorganizmaların nerede ve nasıl yaşadıklarını inceleyecek ve mikroorganizmaların insan yaşamına yaptığı ve yapmakta olduğu etkiyi değerlendireceğiz.

1.1 Mikrobiyoloji

Mikrobiyoloji 2 temel konu ile ilgilidir: (1) Yaşamı anlama ile ilgili temel bilim ve (2) bilimin insan ihtiyaçları açısından uygulamaları.

Temel biyolojik bilim olarak mikrobiyoloji, yaşamsal süreçleri izlemek için araçlar sunmaktadır. Yaşamın kimyasal ve fiziksel temelini en ileri düzeyde anlamamız, mikroorganizmaların çalışılmasıyla elde edilmiştir. Mikrobiyal hücreler çok hücreli organizmaların hücreleriyle birçok ortak biyokimyasal özelliğe sahiptir. Gerçekten bütün hücrelerin ortak pek çok özelliliği mevcuttur. Üstelik, mikrobiyal hücreler laboratuvar kültüründe oldukça yüksek yoğunluklara ulaşabilirler (Şekil 1.1*d*) ve biyokimyasal ve genetik çalışmalar için uygundurlar. Tüm bu özellikler mikroorganizmaları, insan dahil, yüksek organizmalarda hücre işlevinin anlaşılması bakımından mükemmel modeller yapmaktadır.

Mikrobiyoloji, *uygulamalı bir biyolojik bilim* olarak tıp, tarım ve endüstrideki birçok önemli pratik problemle ilgilenir. İnsanlar, diğer hayvanlar ve bitkilerin en önemli hastalıklarından bazıları mikroorganizmalar tarafından oluşturulur. Mikroorganizmaların toprak verimi ve evcil hayvan üretiminde de büyük rolleri vardır. Buna ek olarak, antibiyotikler veya insan proteinlerinin üretimi gibi pek çok büyük-ölçekli endüstriyel işlem mikrobiyolojiye dayalıdır.

Mikroorganizmaların Önemi

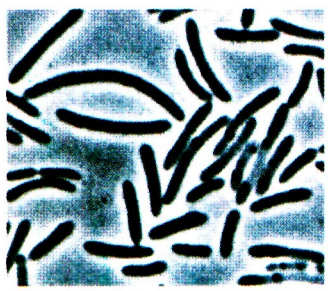
Kitapta ilerledikçe, mikroorganizmaların insan aktivitelerinde ve dünyadaki yaşam ağında oynadıkları merkezi rolü göreceğiz. Örneğin, mikroorganizmaların yokluğunda daha yüksek yaşam formları asla ortaya çıkmayacak ve şu anda yaşamlarını sürdüremeyeceklerdi. Gerçekten, şu an soluduğumuz oksijen bile geçmişteki mikrobiyal aktivitenin bir sonucudur (Şekil 1.1*b*). Ayrıca insan, bitki ve hayvanların organik maddelerin yıkımı ve anahtar besinlerin dönüşümü için mikrobiyal aktivitelere nasıl bağımlı olduğunu göreceğiz. Hiçbir yaşam formu, dünyada yaşamın desteklenmesi ve devamı için mikroorganizmalar kadar önemli değildir.

Mikroorganizmalar, dünya üzerinde bitki ve hayvanların ortaya çıkışından milyarlarca yıl önce oluşmuşlardır. Bu nedenle mikroorganizmaların evrimsel çeşitliliği yüksek organizmalarınkinin çok ötesindedir. Bu büyük çeşitlilik, mikroorganizmalara bazı mükemmel özellikler kazandırmaktadır. Örneğin, mikroorganizmaların yüksek organizmalar için uygun olmayan yerlerde nasıl yaşayabildiğini ve çeşitli fizyolojik yeteneklerinin onları nasıl dünyanın en iyi kimyacıları yaptığını göreceğiz. Ayrıca mikroorganizmaların, yüksek organizmalarla nasıl yararlı veya zararlı ilişkiler kurduğunu göreceğiz. Örneğin, mutluluğumuza neden olan sağlığın ve acı çektiğimiz birçok hastalığın nedeni mikroorganizmalardır.

Mikroorganizmalar, biyosfer faaliyetinde kesin olarak merkezdir. Bu nedenle mikrobiyoloji bilimi tüm biyolojik bilimlerin temelini oluşturur. Mikroorganizmaları hücresel bir varlık olarak tasarlayarak, bu önemli bilimi ele almaya başlayacağız.

1.2 Hücre Olarak Mikroorganizmalar

Hücre, yaşamın temel birimidir. Tek bir hücre, diğer hücrelerden bir zarla (ve belki bir hücre duvarı ile de) ayrılmış olan ve içinde çeşitli kimyasal maddeleri ve hücre içi yapıları içeren bir bütündür (Şekil 1.2●). Bölümlere ayrılmak, yaşam için bir gerekliliktir. Bu nedenle, yaşamın kimyasal bileşenleri gerekli kimyasal reaksiyonların oluşumunu sağla-



L.K. Kimble and M.T. Madigan

(a)

Herbert Voelz

(b)

● **Şekil 1.2 Hücreler.** (a) Işık mikroskobunda görülen çubuk şeklinde bakteri hücrelerinin fotomikrografı; bir hücre yaklaşık 1μm çapındadır. (b) Elektron mikroskobunda görülen bir bakteri hücresinin uzunlamasına kesiti. Daha açık olan iki bölge, kümelenmiş DNA'nın bulunduğu nukleoiddir.

yacak konsantrasyonlarda kalmalıdır. Fakat, hücre kapalı bir sistem değildir. Buna karşılık hücre açık, dinamik bir yapıdır. Hücreler çevreleriyle iletişim kurarlar, madde alışverişinde bulunurlar ve sürekli bir değişim içindedirler. Hücrenin yapı ve işlevini detaylı olarak Bölüm 2, 4 ve 14'de göreceğiz.

Hücre Kimyası ve Anahtar Yapılar

Hücreler esas olarak dört kimyasal bileşeni-**proteinler, nükleik asitler, lipitler** ve **polisakkaritler**-içeren oldukça organize olmuş yapılardır. Bu büyük moleküller **makromoleküller** olarak adlandırılır. Makromoleküllerin farklı hücrelerdeki kimyasal yapısı ve düzenlenişi canlıları birbirinden farklılaştırır. Bu yüzden, kimyasal yönden, ister bir bitki veya hayvan parçası isterse mikroorganizma olsun tüm hücreler pek çok ortak özelliğe sahiptir.

Bir hücrede birçok anahtar yapı bulunmaktadır. **Sitoplazmik zar,** hücre içeriğini dışardan ayıran bir engeldir. Hücre zarı içerisinde, **sitoplazmada** askıda veya çözünmüş olarak bulunan çeşitli yapılar ve kimyasal maddeler bulunur. Sitoplazma, hücrenin çoğalması ve işlevi için gerekli sistemlerin bulunduğu *makine*'dir. Hücrenin *genetik bilgisi*nin-**DNA (deoksiribonükleik asit)**-depolandığı **nükleus** veya **nukleoid** ve hücrede yeni proteinlerin yapıldığı **ribozomlar** buradaki anahtar yapılardır.

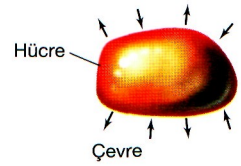
Canlı Sistemlerin Özellikleri

Yaşamın temel özellikleri nelerdir? Hücreleri cansız objelerden neler ayırır? Yaşamla ilgili bakışımız dünya üzerindeki gözlemlerimiz veya fosil kayıtlarından elde ettiğimiz bilgilerle sınırlıdır. Ancak şu ana kadarki biyoloji bilgimizden, pek çok canlı sistem tarafından paylaşılan bazı ortak özellikleri belirleyebiliriz. Bunlar Şekil 1.3●'de özetlenmiştir.

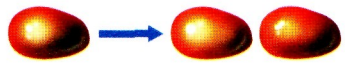
Tüm hücresel organizmalar bazı **metabolizma** tipleri gösterirler. Hücreler bu yolla çevrelerinden besinleri alır, onları dönüştürür–bu maddelerdeki enerjinin bir kısmını hücrenin kullanabileceği formda tutarak-ve daha sonra atık ürünleri elimine ederler. Tüm hücreler **çoğalır**. Bu yolla, hücre, iki hücre oluşturacak üreme ve bölünme ile sonuçlanan bir seri biyokimyasal olayı yönlendirir. Birçok hücre, yeni maddelerin ve yapıların oluştuğu bir işlem olan **farklılaşma**ya uğrar. Spor gibi özelleşmiş hücre yapıları şeklinde olan ve çoğunlukla hücre döngüsünün bir bölümü olan hücre farklılaşması çoğalma, yayılma veya canlılığın devanlılığını sağlar.

Hücreler, diğer hücreler tarafından üretilenler de dahil, çevrelerindeki kimyasal sinyallere cevap verirler. Bu şekilde, hücreler **iletişim** kurarlar. Hücreler, *quorum sensing* denilen bir işlemle, komşu hücreler aralarında geçebilen küçük, difüze olabilen moleküller yoluyla kendi sayılarını bile algılayabilirler. Evrensel olmamasına rağmen, canlı organizmalar genellikle kendi kendini iterek hareket etme yeteneğindedirler; mikrobiyal dünyada birkaç farklı hareket mekanizmasını göreceğiz. Son

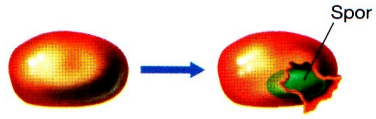
1. Metabolizma
Çevreden besinlerin alımı, hücre içerisinde transformasyonu ve çevrede bulunan atıkların giderimi. Bu yüzden hücre *açık* bir sistemdir.



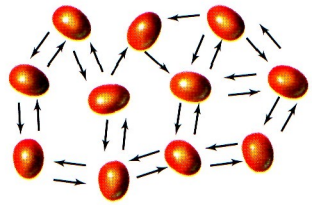
2. Üreme (çoğalma)
Çevreden alınan kimyasal maddeler mevcut hücrelerin yönetimi altında yeni hücrelere dönüştürülürler.



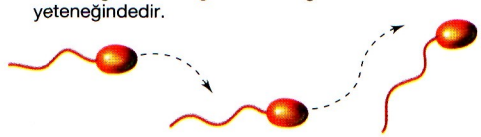
3. Farklılaşma
Genellikle hücresel *yaşam* döngüsünün bir bölümü olarak, spor gibi yeni bir hücre yapısının oluşumu.



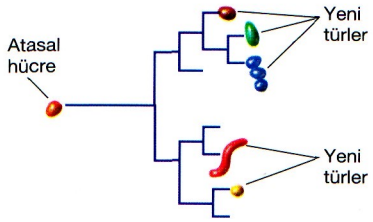
4. İletişim
Hücreler esas olarak, salınan veya alınan kimyasal maddeler yoluyla *iletişim* veya *ilişki* kurarlar.



5. Hareket
Canlı organizmalar genellikle bağımsız olarak hareket etme yeteneğindedir.



6. Evrim
Hücreler genlere sahiptir ve yeni biyolojik özellikleri oluşturmak üzere *evrimleşirler*. Filogenetik ağaçlar hücreler arasındaki evrimsel ilişkiyi gösterir.

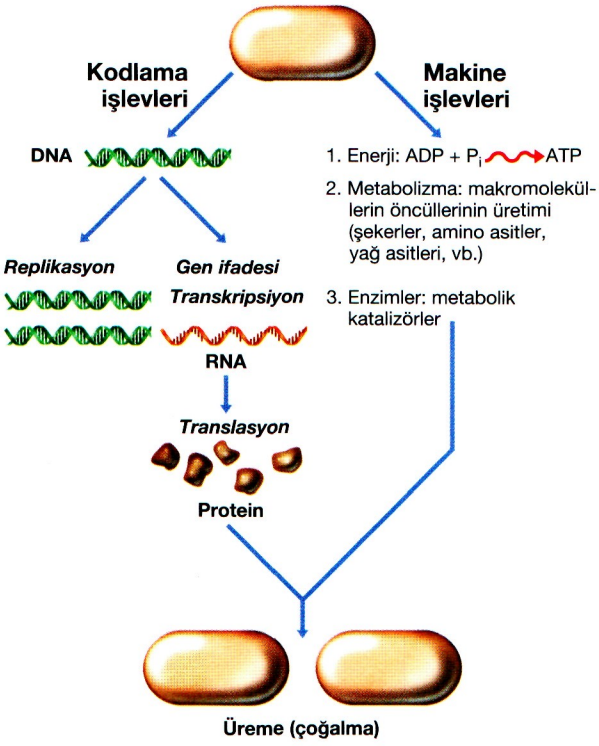


● **Şekil 1.3 Hücresel yaşamın esas belirteçleri.** Farklılaşma ve hareketlilik bütün mikrobiyal hücrelerin özelliği değildir.

olarak, cansız yapılardan farklı olarak hücreler *evrimleşebilir*. **Evrim** olayı boyunca hücreler özelliklerini değiştirebilir ve bu yeni özelliklerini kendi nesillerine aktarabilir.

Makine ve Kodlama Araçları Olarak Hücreler

Hücreler iki şekilde ele alınabilir. Bir açıdan hücreler, kimyasal dönüşümlerin gerçekleştiği makine-



● **Şekil 1.4 Hücrenin makine ve kodlama işlevleri.** Bir hücrenin kendi kendine üremesi için (1) yeni makromoleküllerin sentezlenebilmesi için uygun miktarda enerji ve öncül (2) bölünme sonucunda her hücrenin bir kopya alabileceği şekilde replike olan genetik bilgiler ve (3) yeni hücreyi oluşturacak yeterli miktarlarda gerekli proteinler ve makromolekülleri oluşturmada gerekli olan gen ifadesi (transkripsiyon ve translasyon işlemleri) olmalıdır.

ler olarak düşünülebilir. Bu kimyasal makinelerin katalizörleri, kimyasal reaksiyonların hızını büyük oranda arttırma yeteneğine sahip proteinler, yani **enzimler**dir (Şekil 1.4●). Diğer yandan hücreler, bilgisayarlara benzer şekilde, üreme sırasında bir sonraki nesile aktarılan genetik bilgiyi (DNA) depolayan ve işleyen *kodlama araçları* olarak düşünülebilir (Şekil 1.4). *DNA replikasyonu*, **RNA** üretimi olan *transkripsiyon* ve **protein** üretimi olan *translasyon*un temel hücresel işlevlerini işleyeceğimiz Bölüm 7'de depolanmış genetik bilginin replikasyonu ve işlenmesi ele alınacaktır.

Gerçekte, hücreler hem kimyasal makineler hem de kodlama araçlarıdır. Bu iki hücresel özelliğin arasındaki bağlantı *çoğalma*dır. Bir hücre, uygun koşullar altında büyür ve iki hücre oluşturmak üzere bölünür (Şekil 1.4). Oluşan bu düzenli işlemler sonucunda hücredeki tüm bileşenlerin miktarı *iki katına* çıkarılmalıdır. Bu olay, makromoleküllerin biyosentezi için gerekli öncüllere ve enerjinin sağlanması için hücrenin kimyasal mekanizmalarına ihtiyaç duyar. Ayrıca, bir hücrenin bölünmesiyle oluşan her iki hücre de, daha fazla hücrenin oluşumu için gerekli tüm genetik bilgiyi içermelidir. Bu nedenle, üreme işlemi sırasında DNA'nın replikasyonu da gerçekleşmelidir (Şekil 1.4). Bu yüzden, hücrenin kendi kendini hatasız üretebilmesi için makine ve kodlama işlevleri oldukça koordineli olmalıdır. Gerçekten, *koordinasyon*a ek olarak hücrenin çeşitli makine ve kodlama işlevlerinin *düzenleme*ye tabii olduğunu daha sonra göreceğiz. Bu, hücrenin çevresine optimal uyumunu sağlar.

İlk Hücreler

İlk hücreler nereden oluştu? Tüm hücreler benzer yollarla oluştuklarından, bütün hücrelerin tüm yaşamın *evrensel atası* olan ortak bir atadan köken aldıkları kabul edilmektedir (Bölüm 11). Bir şekilde ilk hücre, hücreden önce *hücre öncesi bir yapı olan*, hücre olmayan bir yapıdan gelmiş olmalıdır. Yaklaşık 3.8 milyar yıl önce, Dünyada ilk hücrenin oluşumu birkaç yüz milyon yıl almış olmalıdır. İlk hücreler bir kez ortaya çıkınca, üremeleri ve bölünmeleri sonucu popülasyonlar oluşmuştur. Daha sonra evrim, bu ilk yaşam formlarının çeşitlenmesi ve gelişmeleri için seçilimini sağlamıştır. Milyarlarca yıllık evrimleşme boyunca müthiş çeşitlilikte hücre tipleri ortaya çıkmıştır. Bölüm 2'de, bu mikrobiyal çeşitliliği inceleyerek ve daha sonra Bölüm 12-16'da konuyu detaylı olarak işleyeceğiz.

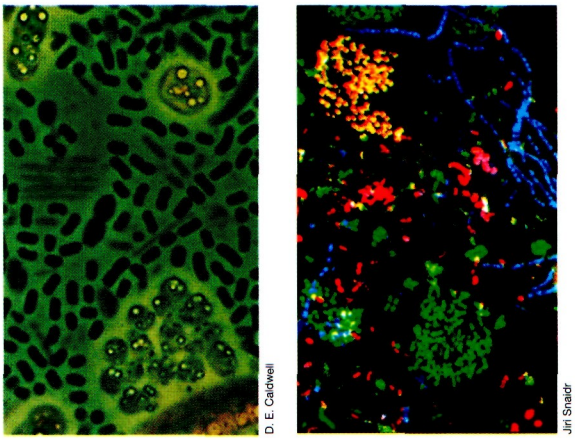
1.2 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Hücrenin, sitoplazma zarı adı verilen ve sitoplazmayı çevresinden ayıran bir bariyeri bulunmaktadır. Diğer hücre özellikleri, nükleus veya nukleoid ve sitoplazmadır. Metabolizma ve üreme canlılık evresiyle ilişkilidir ve hücreler, hem kimyasal makineler hem de kodlama araçları olarak düşünülebilirler. Yaklaşık 4 milyar yıl önce dünya üzerinde yaşam mevcuttu.

- Hücresel makromoleküllerin 4 sınıfını sıralayınız.
- Canlı organizmalarla ilişkili 6 özelliği sıralayınız. Hücrenin canlılığı için her özellik niçin önemlidir?
- Mikrobiyal hücrenin makine ve kodlama işlevlerini karşılaştırınız. Hücre için biri olmadan diğerinin değeri niçin yoktur?

1.3 Mikroorganizmalar ve Doğal Çevreleri

Hücreler doğada diğer hücrelerle birlikte **popülasyon** olarak adlandırılan birlikler halinde yaşarlar. Popülasyonlar, tek bir ana hücreden ardışık hücre bölünmeleri ile oluşan hücre gruplarından meydana gelirler. Bir mikrobiyal popülasyonun yaşadığı çevredeki bölgeye **habitat** denir. Hücre popülasyonu, mikrobiyal habitatlarda nadiren tek başına yaşar. Hücre popülasyonu, daha çok **mikrobiyal topluluklardaki** diğer popülasyonlarla birlikte yaşar ve onlarla ilişki içerisindedir (Şekil 1.5●). Bir mikrobiyal topluluğun üyeleri ve hücre sayıları habitatta var olan kaynaklar ve koşullar tarafından belirlenir. Mikroorganizmaların doğal habitatlarında çalışılmasına **mikrobiyal ekoloji** adı verilir.



(a) (b)

● **Şekil 1.5 Mikrobiyal topluluklara örnekler.** (a) Küçük bir gölün (Wintergreen Gölü, Michigan) derinlerinde oluşan bir bakteriyal toplulukta bulunan çeşitli boyutlarda hücreleri gösteren fotomikrograf. (b) Atık su çamur örneğindeki bir bakteri topluluğu. Örnek, her biri farklı bir bakteri grubunu boyayan bir seri boyayla boyanmıştır(boyama işleminin detayları için Kısım 18.4 ve Şekil 18.11*b*). R. Aman, J. Snaidr, M. Wagner, W. Ludwig ve K.H. Schleifer, 1996. *Journal of Bacteriology*, 178:3496-3500, Şekil 2*b*. ©1996 American Society for Microbiology.

Organizmaların Kendi Kendine ve Habitatlarına Etkisi

Mikrobiyal birliklerdeki popülasyonlar, birbirleriyle faydalı veya zararlı çeşitli şekillerde ilişki kurarlar. Mikrobiyal popülasyonlar birçok yönden ilişki kurar ve işbirliği yaparlar. Örneğin, bazı hücrelerin metabolik aktiviteleri sonucu oluşan atık ürünler diğerleri için besin olabilir. Bir habitattaki organizmalar, fiziksel ve kimyasal çevreleri ile de ilişkidedir. Habitatlar özellikleri bakımından oldukça farklılık gösterirler ve bir organizmanın üremesi için uygun olan bir habitat, diğer bir organizma için zararlı olabilir. Organizmaları bir bütün olarak, çevrelerindeki fiziksel ve kimyasal bileşenlerle birlikte **ekosistem** olarak ifade ederiz. Önemli mikrobiyal ekosistemler olarak sucul (okyanuslar, bataklıklar, göller, akarsular, buz ve kaplıcalar), karasal (toprak, yüzey-altı derinlik) ve bitki ve hayvanlar dahil yüksek yapılı organizmalar sayılabilir.

Ekosistemler, önemli oranda mikrobiyal aktivitelerle kontrol edilirler. Organizmalar, metabolik yollarla besinleri çevreden alır ve bu maddeleri yeni hücreler oluşturmak için kullanır. Aynı zamanda, organizmalar metabolizmalarının atık ürünlerini çevreye bırakırlar. Böylece, mikrobiyal bir ekosistem, mikroorganizmalar tarafından besinlerin dönüştürülmesi sayesinde zamanla hem kimyasal ve hem de fiziksel olarak basamak basamak değişecektir. Çevresel değişimler diğer mikroorganizmaların üremesine izin verebilir. Örneğin, moleküler oksijenin (O_2) bazı mikroorganizmalar için yaşamsal önemi varken diğerleri için zehir etkili olabilir. Ancak, bir grup organizmanın (aeroblar) oksijeni kullanma aktivitesi, oksik bir habitatı anoksik (oksijensiz) şekle dönüştürebilir ve böylece, bu ortam daha önce üreyemeyen anaerobik organizmaların üremesi için uygun hale getirebilir.

Daha sonraki bölümlerde, temel bazı mikrobiyal yapı ve fonksiyonları, genetik, evrim ve çeşitliliği öğrendikten sonra mikroorganizmaların hayvan, bitki ve tüm global ekosistemi etkileme yollarını tartışmaya başlayacağız.

Mikrobiyal Yaşamın Kapsamı

Mikroorganizmalar küçük olmalarına rağmen yüksek organizmaların biyokütlesi ile karşılaştırıldığında dünyadaki biyokütleleri çok büyüktür. Toprak ve su gibi doğal maddelerin incelenmesi sonucu her zaman mikrobiyal hücreler elde edilir. Bu küçük hücreler bağımsız görünüyor olsalar da, tek hücreler hızlı çoğalama ve habitat üzerinde önemli etkisi olabilen büyük popülasyonlar oluşturma yeteneğine sahiptirler (Bkz. Şekil 1.1*c*). Bu nedenle, mikroorganizmalar son derece önemlidir ve gerçekte her ekosistemin kantitatif yönden önemli bileşenleridirler.

Hesaplamalar, Dünya üzerindeki toplam mikrobiyal hücrelerin ve özellikle **prokaryotların** (**bakteriler**, Bölüm 2) tahmini sayısının 5×10^{30} hücre seviyelerinde olduğunu göstermektedir. Oldukça çok sayısında bulunan bu küçük hücrelerdeki toplam karbon miktarı dünya üzerindeki tüm bitkilerinkine eşittir (ve bitki karbonu hayvan karbonunun çok üzerindedir). Ayrıca, prokaryotik hücrelerdeki toplam azot ve fosfor içeriği, tüm bitki biyokütlesindekinin 10 katından fazladır.

Böylece, prokaryotik hücreler küçük olmalarına karşın *dünya üzerindeki biyokütlenin büyük bölümünü* oluştururlar ve yaşam için gerekli temel besinlerin anahtar depolarıdır. Benzer çarpıcı bir durum da prokaryotik hücrelerin çoğunun dünyanın yüzeyinde değil, bunun yerine okyanus ve karasal *yüzeylerin altında* bulunduklarının anlaşılmış olmasıdır. Bu habitatlar nispeten keşfedilmemiş olduklarından, mikrobiyologların dünyada baskın olan yaşam formları ile ilgili keşfedecekleri ve öğrenecekleri daha çok şey mevcuttur.

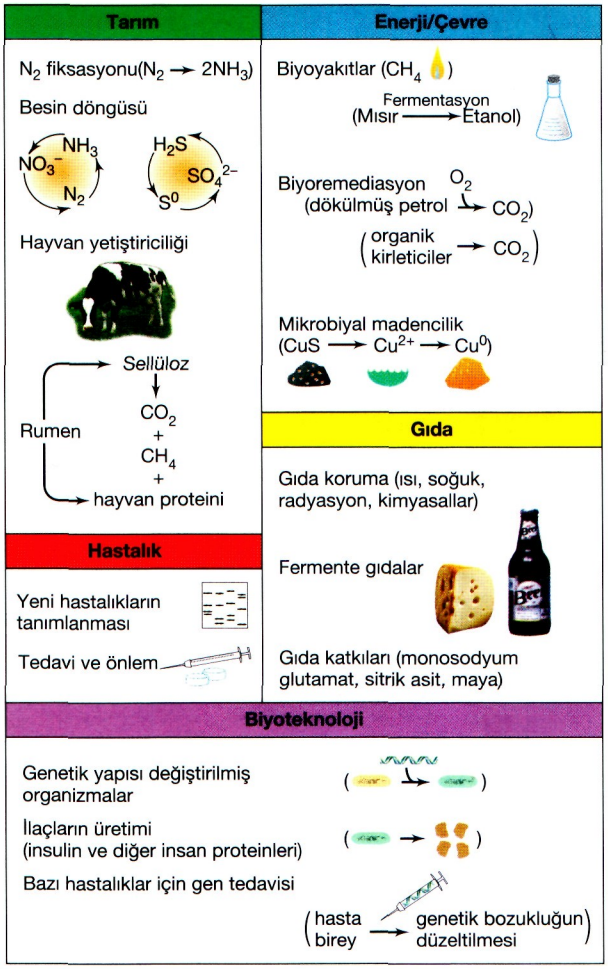
1.3 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Doğada mikroorganizmalar, mikrobiyal topluluktaki diğer popülasyonlarla ilişki kuran popülasyonlar olarak bulunurlar. Mikrobiyal toplulukların aktiviteleri, habitatlarının kimyasal ve fiziksel özelliklerini önemli oranda etkileyebilir. Dünyadaki biyokütlenin çoğu mikrobiyaldir.

- *Mikrobiyal habitat* nedir?
- Mikroorganizmalar, habitatlarının kimyasal ve fiziksel özelliklerini nasıl değiştirirler?
- Pek çok prokaryotik hücre, dünya üzerinde nerede bulunur?

1.4 Mikroorganizmaların İnsanlar Üzerine Etkisi

Mikrobiyoloğun bir amacı da, mikroorganizmaların nasıl çalıştığını anlamak ve onların yararlarını



● Şekil 1.6 Mikroorganizmaların insan yaşamına etkisi. Birçok insan, mikroorganizmaları enfeksiyon hastalıkları yönünden düşünmesine karşın, gerçekte az sayıda mikroorganizma hastalığa neden olur. Mikroorganizmalar hastalık etkenleri olarak oynadıkları role ek olarak, hayatımızın birçok alanını etkilerler.

arttırabilecek ve zararlı etkilerini kontrol edecek yollar geliştirmektir. Mikrobiyologlar bu amaçlara ulaşmakta oldukça başarılı olmuş ve mikrobiyoloji insan sağlık ve refahının artmasında büyük bir rol oynamıştır. Mikroorganizmaların insan hayatındaki genel etkisi Şekil 1.6●'da verilmiştir.

Hastalık Etkenleri Olarak Mikroorganizmalar

Bir mikrobiyoloğun mikroorganizmaları kontrol etmedeki başarısının bir ölçüsü, Şekil 1.7●'deki istatistikte görülmektedir. Bu veriler, Amerika Birleşik Devletler'indeki günümüz ölüm nedenlerini, bundan yüzyıl öncekiyle karşılaştırmaktadır. 20. yüzyılın başında, ölümlerin asıl nedenleri enfeksiyon hastalıkları idi (Şekil 1.7). Enfeksiyon hastalıkları **patojenler** tarafından oluşturulur. Özellikle çocuklar ve yaşlılar mikrobiyal hastalıklara büyük oranda yenik düşerler. Günümüzde, gelişmiş ülkelerde enfeksiyon hastalıkları ölüm oranları bakımından çok daha az öneme sahiptir. Hastalık süreçlerini kapsamlı bir şekilde anlamamız, ayrıca gelişmiş sıhhi uygulamalar ve antimikrobiyal etkenlerin keşifi ve kullanımı sonucunda enfeksiyon hastalıklarının kontrolu mümkün olmuştur. Bu bölümde daha sonra göreceğimiz gibi, bir bilim olarak mikrobiyoloji, temelini enfeksiyon hastalıkları konusundaki çalışmalardan almıştır.

Günümüzde bir çok enfeksiyon hastalığı kontrol edilebiliyor olsa da, mikroorganizmalar halen yaşam için büyük bir tehlike olabilmektedir. Burada, kazanılmış bağışıklık yetmezliği sendromu (AIDS) gibi mikrobiyal bir enfeksiyonla yavaş yavaş ölen veya çoklu ilaç direncine sahip bir patojenle infekte olmuş bir bireyi düşünün. Üstelik, mikrobiyal hastalıklar dünyanın birçok gelişmekte olan ülkesinde halen ölümlerin esas nedenini oluşturmaktadır. Çiçek hastalığının yeryüzünden silinmesi tıp bilimi için büyük bir zafer iken, halen milyonlarca insan her yıl sıtma, verem, kolera, Afrika uyku hastalığı ve şiddetli ishal sendromları gibi yaygın mikrobiyal hastalıklar sonucu ölmektedir.

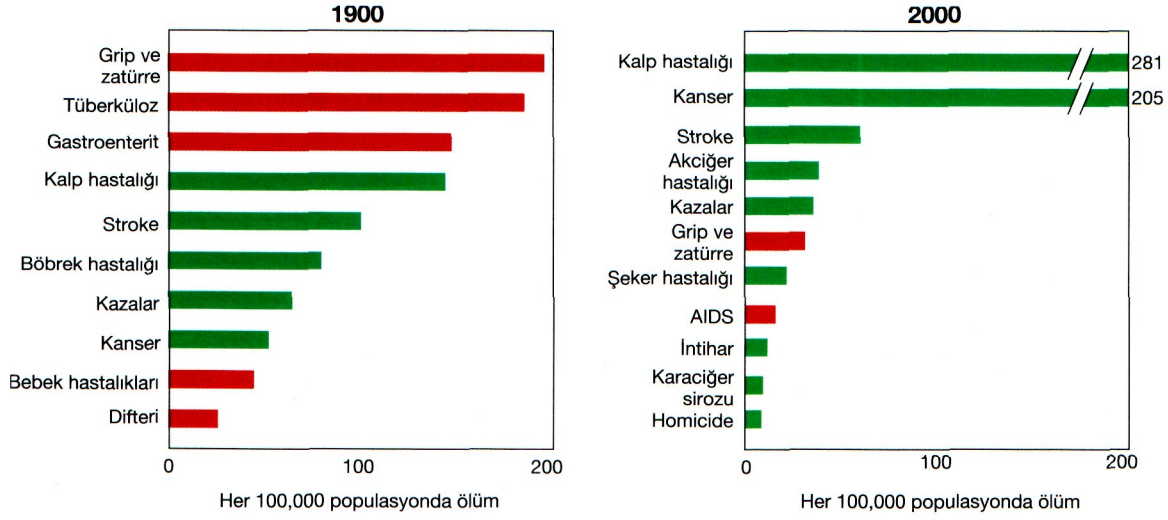
Açıkçası, mikroorganizmalar halen insan sağlığı için ciddi bir tehlikedir. Bununla birlikte mikrobiyoloji, mikroorganizmaların çoğunun insanlara zararlı *olmadığını* göstermiştir. Gerçekten de, mikroorganizmaların çoğu yüksek yapılı organizmalara zarar vermezler ve hatta, insanlar için büyük öneme sahip süreçlerin gerçekleşmesinde yararları da vardır. Şimdi, bu süreçlerin bazılarını göreceğiz.

Mikroorganizmalar ve Tarım

Tüm *tarım* sistemimiz pek çok bakımdan mikrobiyal aktivitelere bağımlıdır (Şekil 1.6). Örneğin **baklagiller** olarak adlandırılan bitki grubu üyesi bazı ürün bitkileri kökleri üzerinde **nodüller** adı verilen yapıları oluşturan bakterilerle yakın işbirliği içerisinde yaşamlarını sürdürürler. Kök nodüllerinde, bu bakteriler atmosferik azotu (N_2), bitkinin gelişmesi için kullandığı fikse edilmiş azota (NH_3) dönüştürür. Bakterilerin bu aktiviteleri, pahalı ve kirletici bitki gübrelerine olan gereksinimi azaltır.

Ayrıca, sığır ve koyun gibi geviş getiren hayvanlarda sindirim işlemi için gerekli olan mikroorganizmalar da büyük tarımsal öneme sahiptir. Bu önemli çiftlik hayvanları, içerisinde mikroorganizmaların, bitkilerin ana bileşeni olan selülozun sindirimini gerçekleştirdiği **rumen** adı verilen özel bir sindirim kanalına sahiptir. Bu mikroorganizmalar olmadan, sığır ve koyunlar çayır ve saman gibi selüloz açısından zengin fakat diğer yönden besince fakir besinlerle iyi gelişemezler.

Ayrıca mikroorganizmalar, özellikle *karbon*, *azot* ve *kükürt* gibi bitki beslenmesinde önemli besinlerin döngüsünde anahtar rol oynarlar. Toprak ve suda gerçekleşen mikrobiyal aktiviteler bu elementleri



● **Şekil 1.7 Amerika Birleşik Devletleri'nde önde gelen 10 etkenin ölüm oranları: 1900-2000.** Enfeksiyon hastalıkları 1900'de esas ölüm nedenleri iken bugün çok daha az öneme sahiptir. Mikrobiyal hastalıklar kırmızı ile, mikrobiyal olmayan ölüm nedenleri ise yeşil ile gösterilmiştir. Veriler Birleşik Devletler Ulusal Sağlık İstatistikleri Merkezi'nden.

bitkiler için kolaylıkla alınabilen formlara dönüştürür. Tarımdaki yararlarına ek olarak, mikroorganizmalar zararlı etkilere de sahip olabilirler. Mikrobiyal bitki ve hayvan hastalıklarının tarım endüstrisinde önemli ekonomik açıdan zararlı etkileri vardır. Örneğin, 2003 yılında Amerika Birleşik Devletleri'ndeki deli dana hastalığı vakası (Kısım 29.10), birkaç büyük yabancı marketin et ihracatını durdurmuş ve Birleşik Devletlerindeki sığır endüstrisi üzerine geçici ancak büyük bir etki yapmıştır.

Mikroorganizmalar ve Gıda

Üretilen gıda ürünleri ve hayvanlar, tüketicilere sağlıklı bir biçimde sunulmalıdır. Mikroorganizmalar gıda endüstrisinde önemli işlevlere sahiptir (Şekil 1.6). Sadece *gıdaların bozulması* bile, her yıl büyük ekonomik kayıplara neden olmaktadır. Gerçekten, konserve, donmuş gıda ve kurutulmuş gıda endüstrileri, mikrobiyal bozulma olmayacak şekilde hazırlanmıştır. *Gıdalarla bulaşan hastalıklar* da önemlidir. İnsan tüketimine sunulan gıdalar birçok mikroorganizmanın üremesini de destekleyebildiğinden, hastalıkların yayılışını önlemek için, gıdalar uygun şekilde hazırlanmalı ve kontrol edilmelidir.

Bununla birlikte, gıdalarda bulunan mikroorganizmaların tümü gıda ürünleri ve onlarla beslenenler üzerine zararlı etkilere sahip değildir. Örneğin, ekonomik değeri oldukça fazla olan peynir, yoğurt ve tereyağ gibi süt ürünleri mikrobiyal aktiviteyle üretilir. Benzer şekilde, turşu ve bazı sosislerin yapımı mikrobiyal fermentasyona dayanır. Ayrıca, mayalı ürünler ve alkollü içecekler de mayanın fermentatif aktivitesiyle üretilirler. Bu konuların çoğu kitabın 30. Bölümünde ele alınmıştır.

Mikroorganizmalar, Enerji ve Çevre

Mikroorganizmalar enerji üretiminde önemli rol oynarlar (Şekil 1.6). Doğal gaz (**metan**), *metanojenik* mikroorganizmaların metabolizmasıyla oluşan bakteriyal aktivitenin bir sonucudur. Fototrofik mikroorganizmalar, organizmalarda depolanmış enerji olan **biyokütle** üretimi için ışık enerjisini kullanabilirler. Mikrobiyal biyokütle ve evsel atık, tahıl atığı ve hayvan atıkları gibi mevcut atık maddeler mikroorganizmaların aktivitesiyle metan ve etanol gibi "biyoyakıtlar"a dönüştürülebilirler.

Biyolojik iyileştirme olarak bilinen işlemle, mikroorganizmalar insan etkisiyle oluşan kirliliğin temizlenmesinde yardım amaçlı kullanılabilirler (Şekil 1.6). Petrol kirliliği, çözücüler, pestisitler ve çevre için toksik olan diğer kirleticilerin gideriminde, çeşitli mikroorganizmalar kullanılabilir. Mikroorganizmaların yeryüzündeki büyük çeşitliliği, çevrenin temizlenmesinde çözüm sağlayan geniş genetik kaynaklara sahiptir ve bu alandaki pek çok çalışma şu anda devam etmektedir.

Mikroorganizmalar ve Gelecek

Biyoteknoloji, tipik olarak ticari değeri yüksek olan ürünlerin genetik olarak değiştirilmiş mikroorganizmalarla sentezlendiği endüstriyel biyosentezlerde mikroorganizmaların kullanımıdır (Bölüm 31). Biyoteknoloji, gen ve ürünlerinin yapay manipülasyonu olan **genetik mühendisliğine** büyük oranda bağımlıdır (Şekil 1.6). Mikroorganizmalar ve enzimleri moleküler araçlar olarak kullanılarak herhangi bir kaynaktan elde edilen genler manupile edilebilir ve değiştirilebilir. Örneğin, şeker hastalığı olan insanlarda anormal derecede düşük miktarlarda bir hormon olan insan insülini, bir mikroorganizmaya klonlanmış insan insülin geninden mikrobiyolojik yolla üretilebilir. Günümüzde, genetik teknikler kullanılarak (Bölüm 15), hedeflenen proteinleri kodlayan genler için yüzlerce genetik harita araştırılabilir, genler

uygun bir konakçıya klonlanabilir ve daha sonra proteinler ticari olarak üretebilir.

Mikroorganizmaların insan topluluğu üzerine olan büyük etkisi açıktır. Gerçekten, mikroorganizmaların ve aktivitelerinin farkında olmak için pek çok nedenimiz mevcuttur (Şekil 1.6). Mikrobiyolojinin kurucularından biri olan ünlü Fransız bilim insanı Louis Pasteur'ün ifade ettiği gibi: "Doğada sonsuz küçüklüktekinin rolü sonsuz büyüktür." Mikrobiyolojinin konularına daha detaylı olarak başlamadan önce, Pasteur ve diğer ilk mikrobiyologların mikrobiyoloji bilimine olan katkılarını kısaca görelim.

1.4 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Mikroorganizmalar insanlar için hem faydalı hem de zararlı olabilirler. Zararlı mikroorganizmaları (infeksiyöz hastalık etkenleri) özellikle belirtmek eğiliminde isek de, doğadaki çok daha fazla mikroorganizma zarardan çok faydalıdır.

- Mikroorganizmalar, gıda ve tarım endüstrilerinde hangi açılardan önemlidir?
- Mikroorganizmalar tarafından hangi yakıtlar yapılabilir?
- Biyoteknoloji nedir ve insan yaşamını nasıl geliştirebilir?

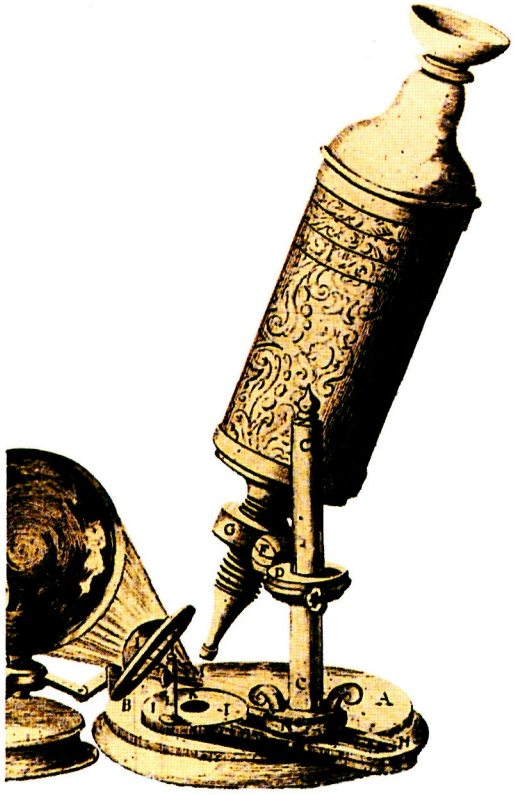
MİKROBİYOLOJİDE KEŞİF YOLLARI

Diğer bilim dallarında olduğu gibi modern mikrobiyoloji de, pek çok şeyi geçmişine borçludur. Mikrobiyoloji bilimi her ne kadar, çok eski köklere sahip olsa da, gerçekte 19. yüzyıla kadar gelişmemiştir. O zamandan beri, bu alanda patlama yaşandı ve ilgili bazı yeni alanlar ortaya çıktı. Şimdi bu keşif yollarını göreceğiz.

1.5 Mikrobiyolojinin Tarihsel Kökleri: Hooke, van Leeuwenhoek ve Cohn

Çıplak gözle görülemeyen küçük canlıların varlığından uzun süre şüphelenilmesine rağmen, keşfedilmeleri mikroskobun bulunmasıyla olmuştur. 1665'de Robert Hooke, küflerin fruktifikasyon yapılarını tanımlayarak mikroorganizmaları ilk tanımlayan kişi olmuştur (Şekil 1.8●). Bakterileri ilk defa gözlemleyen Hollandalı tuhafiyeci ve amatör mikroskop yapımcısı Antony van Leeuwenhoek idi. Hooke'un çalışmalarından bilgisi olan van Leuwenhoek, 1684'te kendi yaptığı oldukça basit bir mikroskobu kullanarak çeşitli doğal maddeleri mikrobiyal yönden incelemiştir (Şekil 1.9●).

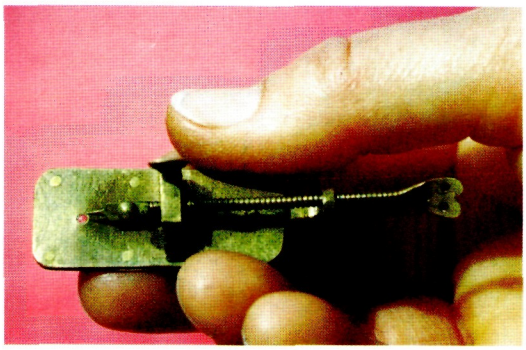
Bugünün standartlarına göre van Leeuwenhoek'un mikroskopları ilkeldi. Fakat, dikkatli manipülasyon ve odaklamayla bakteri gibi küçük mikroorganizmaları görebildi. Araştırıcı 1676'da biber-su infüzyonlarını incelerken bakterileri keşfetti. van Leeuwenhoek'un gözlemleri ile ilgili bir



(a)

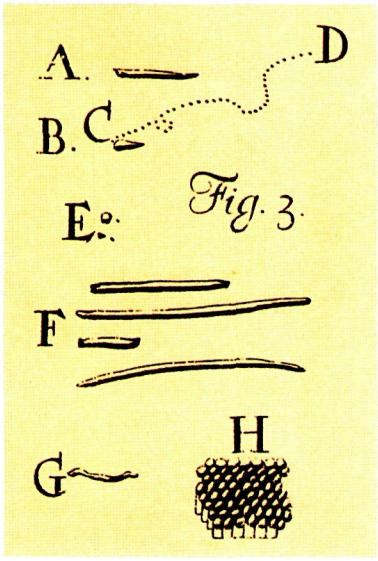
(b)

● **Şekil 1.8 İlk mikroskop.** (a) Robert Hooke tarafından 1664'de kullanılan mikroskobun çizimi. Ayarlanabilir bir körüğün ucuna takılmış objektif lensi (G), Tek bir lens ile bir örnek üzerine odaklanmış aydınlatma (1). (b) Robert Hooke'un bir çizimi. 1655'de *Micrographia*'da yayımlanan bu çizim bir mikroorganizmanın ilk tanımlamasıdır. Organizma, tabaklanmış deri yüzeyinde üremiş mavimsi renkte bir küftür. Yuvarlak yapılar (sporangia) küf sporlarını bulundurur.

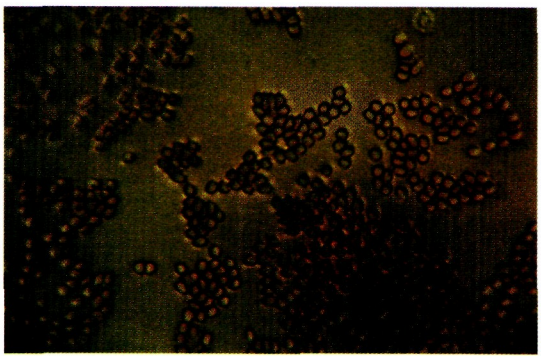


T. D. Brock

(a)



(b)



Brian J. Ford

(c)

● **Şekil 1.9 van Leeuwehoek'un mikroskobu.** (a) van Leeuwenhoek mikroskobunun kopyasını gösteren fotograf. Lens, ayarlanabilir odaklama vidasının ucuna bitişik pirinç plaka üzerinde monte edilmiştir. (b) van Leeuwenhoek'un 1684'de yayımlanmış bakteri çizimleri. Bu kaba çizimlerden bile yaygın bulunan bakterilerin birkaç morfolojik tipini ayırt edebiliriz. A,C,F ve G çubuk şekilli; E disk veya kok şeklinde; H kok paketleri (Şekil 4.11). (c) van Leeuwenhoek mikroskobuyla çekilmiş bir insan kan yayma preparatının fotomikrografı. Kırmızı kan hücreleri net bir şekilde görülmektedir.

seri mektubu İngilizce'ye tercüme edilerek Londra Kraliyet Topluluğu tarafından 1684'de basıldı. van Leeuwenhoek'un "küçük hayvancıklar" olarak tanımladığı çizimlerinden bazıları Şekil 1.9*b*'de gösterilmiştir.

Van Leeuwenhoek'un gözlemleri zaman içerisinde diğerleri tarafından desteklenmesine rağmen, bu küçük organizmaların doğası ve öneminin anlaşılması ile ilgili süreç bundan sonraki yaklaşık 150 yıl boyunca yavaş ilerledi. Gelişmiş mikroskoplar ancak 19. yüzyılda yaygınlaştı ve yine bu dönemde mikrobiyal yaşam şekillerinin yayılışı ve doğası daha fazla anlaşılır hale geldi.

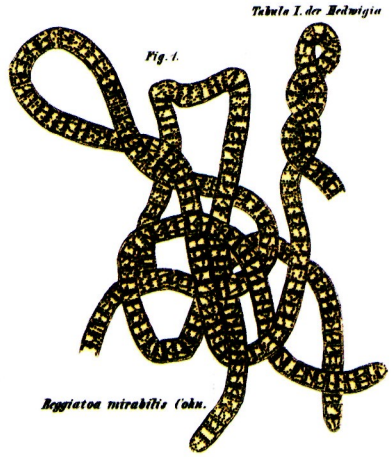
O dönemde temelde, tıp ve biyoloji alanında hakim iki önemli soru olan *spontan generasyon* (*kendiliğinden oluşum*) ve *enfeksiyon hastalıklarının doğası* üzerine yoğunlaşıldığından dolayı, 19. yüzyılın ortasından sonlarına kadar mikrobiyoloji biliminde büyük ilerlemeler oldu. Yüzyıllarca süren bu sorulara cevaplar, henüz yeni gelişmekte olan mikrobiyoloji alanındaki iki büyük bilim insanı tarafından verildi: Fransız kimyacı *Louis Pasteur* ve Alman tıp adamı *Robert Koch*. Fakat, Onlar'ın çalışmalarına geçmeden önce Pasteur ve Koch'la aynı dönemde yaşayan, günümüzde *bakteriyoloji* olarak adlandırdığımız alanın kurucusu olan Alman botanikçi *Ferdinand Cohn*'un çalışmasını kısaca inceleyelim.

Ferdinand Cohn ve Bakteriyoloji Bilimi

Ferdinand Cohn (1828-1898) botanikçi olarak yetişti ve mikroskoba olan ilgisi onu doğal olarak tek hücreli bitkileri –algler- ve daha sonra fotosentetik bakterileri çalışmaya yönlendirdi. Cohn, fotosentetik pigmentleri bulunmayanlar dahil bütün bakterilerin bitki aleminin üyesi olduğuna inanmış ve mikroskobik çalışmalarında, bitkiler ve alglerden büyük kükürt bakterisi *Beggiatoa* dahil değişik bakterilere kademeli olarak yönelmiştir (Şekil 1.10●).

Cohn özellikle, *Bacillus* cinsini ve endospor oluşum sürecini keşfetmesine yol açan, ısıya-dirençli bakteri tipleriyle ilgilenmiştir. Bakteri endosporlarının ısıya son derece dirençli olduğunu şu an biliyoruz. Cohn, *Bacillus*'un bütün yaşam döngüsünü tanımlamış (vejetatif hücre → endospor → vejetatif hücre; Kısım 4.15) ve kaynatma sonucu endosporların değil vejetatif hücrelerin öldüğünü keşfetmiştir. Gerçekten de, Cohn' un buluşları John Tyndall gibi daha önceki bilim insanlarının niçin kaynatmayı güvenilir olmayan bir sterilizasyon aracı olarak bulduklarının açıklanmasına yardımcı olmuştur.

Cohn emekliliğine kadar, bakterilerle çalışmaya devam etmiştir. Bu süre boyunca bakteri sınıflandırma şeması için temel oluşturmuş ve önemli bir bilimsel derginin kuruculuğunu yapmıştır. Cohn, ayrıca, ilk tıbbi mikrobiyolog Robert Koch'un araştırma ve tekniklerinin büyük savu-



● **Şekil 1.10 Kükürt oksitleyen filamentli bakteri *Beggiatoa mirabilis*'in Ferdinand Cohn tarafından 1866'da yapılmış çizimi.** Hücrenin içindeki küçük granüller hidrojen sülfidin (H_2S) oksidasyonundan oluşan element halindeki kükürdü içermektedir. Cohn, granülleri kükürt olarak belirleyen ilk isimdi.

nucusuydu. Cohn ayrıca, erlen ve tüpleri pamukla kapatma gibi steril kültür ortamlarını kontaminasyondan korumak için basit fakat oldukça etkili metotların gelişmesindeki katkısı ile de anılmaktadır. Bu metotlar, daha sonra Koch tarafından kullanıldı ve çeşitli hastalık-etmeni bakterilerin izolasyon ve karakterizasyonunun hızlı ilerlemesini sağladı (bkz. Kısım 1.6).

1.5 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Robert Hooke mikroorganizmaları ve Antony van Leeuwenhoek bakterileri tarif eden ilk bilim insanlarıdır. Ferdinand Cohn, bakteriyoloji alanını kurmuş ve bakteriyal endosporları keşfetmiştir.

- Van Leeuwenhoek yaklaşık hangi dönemde bakterileri keşfetmiştir? Cohn endosporlar üzerine ne zaman çalışmıştır?
- van Leeuwenhoek'un döneminden önce mikrobiyolojinin gelişmesini engelleyen nedir?

1.6 Pasteur, Koch ve Saf Kültürler

Ondokuzuncu yüzyılın ortasından sonuna dek mikrobiyoloji biliminde gelişme görüldü. Spontan generasyon görüşü çürütüldü ve saf kültür mikrobiyolojisi öne çıktı.

Pasteur ve Spontan Generasyonun Çöküşü

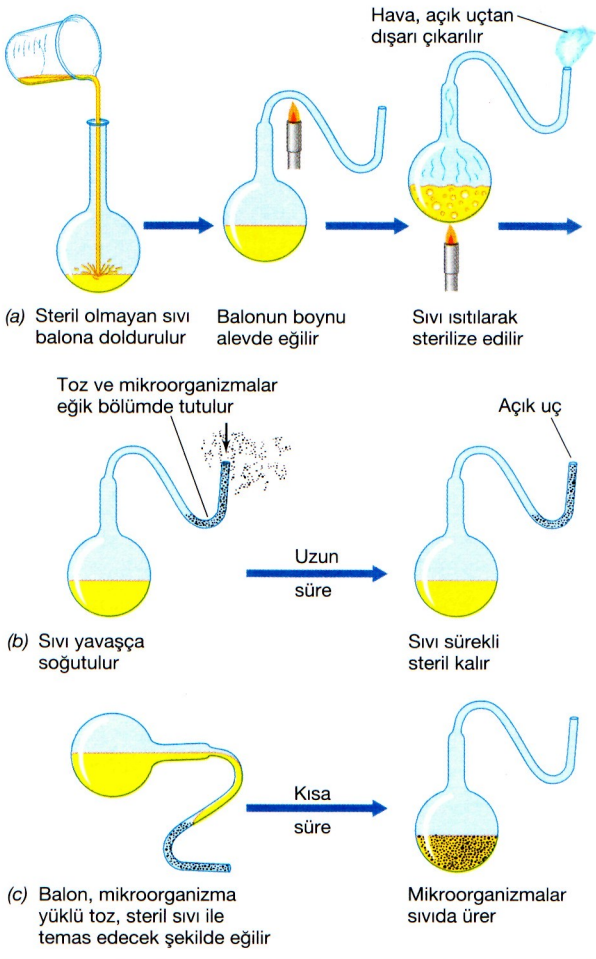
Spontan generasyon görüşü milattan beri mevcuttu. Spontan generasyonun temel fikri kolaylıkla anlaşılabilir. Örneğin, eğer bir gıda bir süre bekletilirse bozulur. Bozulmuş materyal mikroskopla incelendiğinde, bakteriler ve muhtemelen kurtçuk ve solucanlar gibi yüksek organizmalarla bile dolu olduğu görülür. Taze gıdada bunlar gözlenmediğine göre bu organizmalar nereden geliyor? Bazı kişiler havadan gıdaya bulaşan tohum veya mikroplardan geliştiğini söylerken, diğerleri cansız maddelerden kendiliğinden oluştuğunu söylemekteydi. Bu problemi çözmek için güçlü bir önsezi gerekiyordu.

Louis Pasteur (1822-1895) spontan generasyonun güçlü bir karşıtıydı. Bozulan maddelerde gözlenen mikroorganizmaların havadakilerle oldukça benzer olduğunu ilk kez Pasteur gösterdi. Pasteur, çürüyen maddelerde bulunan mikroorganizmaların havada bulunan mikroorganizmalardan köken aldıkları sonucuna vardı. Bu hücrelerin sürekli olarak tüm cisimler üzerinde yer aldıklarını ve şartlar uygun duruma geldiğinde üremekte olduklerini gösterdi. Pasteur, gıdaları kontamine eden tüm canlı organizmaları yok edecek bir yolla muamele edilir, **steril** olarak ifade edilir, ve daha sonra kontaminasyondan korunursa, bozulmamaları gerektiğini düşündü.

Isıtmanın mikroorganizmaları etkin bir şekilde öldürdüğü belirlenmiş olduğundan, Pasteur kontaminantları elimine etmek için ısıyı kullandı. Gerçekten de, başka araştırıcılar, bir besin solusyonu cam balonda kapalı tutulup kaynama derecesinde ısıtıldığında mikrobiyal üremeyi desteklemediğini göstermişlerdir. Cisimlerin içinde veya üzerindeki tüm bakterilerin ve diğer mikroorganizmaların öldürülmesini günümüzde **sterilizasyon** olarak adlandırıyoruz.

Spontan generasyonu savunanlar, spontan generasyon için temiz havanın gerekli olduğunu ileri sürerek bu deneyleri eleştirdiler. Kaynatmanın bir şekilde, kapalı balondaki havayı etkilediğini ve bu nedenle bu olayın spontan generasyonu desteklemeyeceğini ileri sürdüler. Pasteur 1864'de, şimdi *Pasteur balonu* olarak bildiğimiz "kuğu-boyunlu" bir balon yaparak bu itirazı basit ve zekice çürüttü (Şekil 1.11●). Böyle bir balonda, besin solusyonları kaynayıncaya kadar ısıtılabilirdi. Bununla birlikte, balon soğutulduktan sonra, hava yeniden girebilirken, boyundaki eğim ("kuğu-boynu" dizaynı), parçacık halindeki maddelerin (mikrobiyal kontaminantlar bulundurur) balonun esas gövdesine girişini ve üremelerini engelliyordu.

Pasteur balonunda, sterilize edilmiş sıvı besin bozulmadı ve boyun, balon içindeki steril sıvıya değmedikçe mikroorganizmalar asla görülmedi. Buna karşılık steril sıvı, balonun kontamine olmuş boynuna temas edecek şekilde balon eğilirse (Şekil 1.11*c*), bozulma oluştu ve sıvı kısa sürede mikroorganizmalarla zenginleşti. Bu basit deney, spontan generasyon teorisi ile ilgili tartışmaları esaslı bir şekilde sonlandırdı ve mikrobiyoloji bilimi sağlam adımlarla ilerleyebildi. Pasteur'ün çalışması, tesadüfi olmayıp, sonuç olarak geliştirilen ve temel ve uygulamalı araştırma içerisinde yer alan etkin sterilizasyon yöntemlerinin gelişmesini sağlamıştır.



● **Şekil 1.11 Pasteur'ün kuğu-boyunlu balon deneyi.** (a) Balon içerisindekilerin sterilizasyonu. (b) Eğer balon düz konumda bırakılırsa mikrobiyal üreme gerçekleşmez. (c) Eğer boyun kısmında tutulmuş olan mikroorganizmalar steril sıvıya ulaşırlarsa mikrobiyal üreme gerçekleşir.

Prensipleri bugün birçok gıdanın konservelenmesinde ve korunmasında uygulandığından gıda bilimi Pasteur'e çok şey borçludur (*pastörizasyon*).

Pasteur, mikrobiyoloji ve tıpta diğer birçok başarıya imza atmıştır. Bunlar arasında en önemlisi, yaşamının bilimsel olarak oldukça üretken bir dönemi olan 1880-1890 yılları arasında şarbon, tavuk kolerası ve kuduz hastalıklarına karşı aşılar geliştirmesidir. Tıp ve veterinerlikte bu çığır açıcı gelişmeler sadece kendi başlarına oldukça önemli olmasa da, Pasteur'le aynı zamanda yaşayan Robert Koch'un geliştirmiş olduğu *hastalığın germ teorisi* kavramının da yerleşmesine yardımcı olmuştur.

Koch ve Hastalığın Germ Teorisi: Koch Postulatlarının Gelişimi

Mikroorganizmaların hastalıklara neden olabileceklerinin kanıtlanması, mikrobiyoloji biliminin gelişmesine en büyük katkıyı yapmıştır. Hasta bir insandan sağlıklı bir insana bir hastalık etkeninin geçebileceği on altıncı yüzyılda bile düşünülmüştü. Mikroorganizmalar keşfedildikten sonra, yaygın olarak hastalıklardan sorumlu olduklarına inanılmış, ancak kesin kanıt elde edilememişti. Ignaz Semmelweis ve Joseph Lister tarafından sanitasyon alanında yapılan keşifler, mikroorganizmaların insanda hastalıklara neden olmalarıyla ilgili önemine dolaylı delil sağlamış, ancak deneyimli bir tıpçı olan Robert Koch'un (1843-1910) çalışması ile hastalığın germ teorisi nihayet açık biçimde kavramlaştırılmış ve deneysel destek bulmuştur.

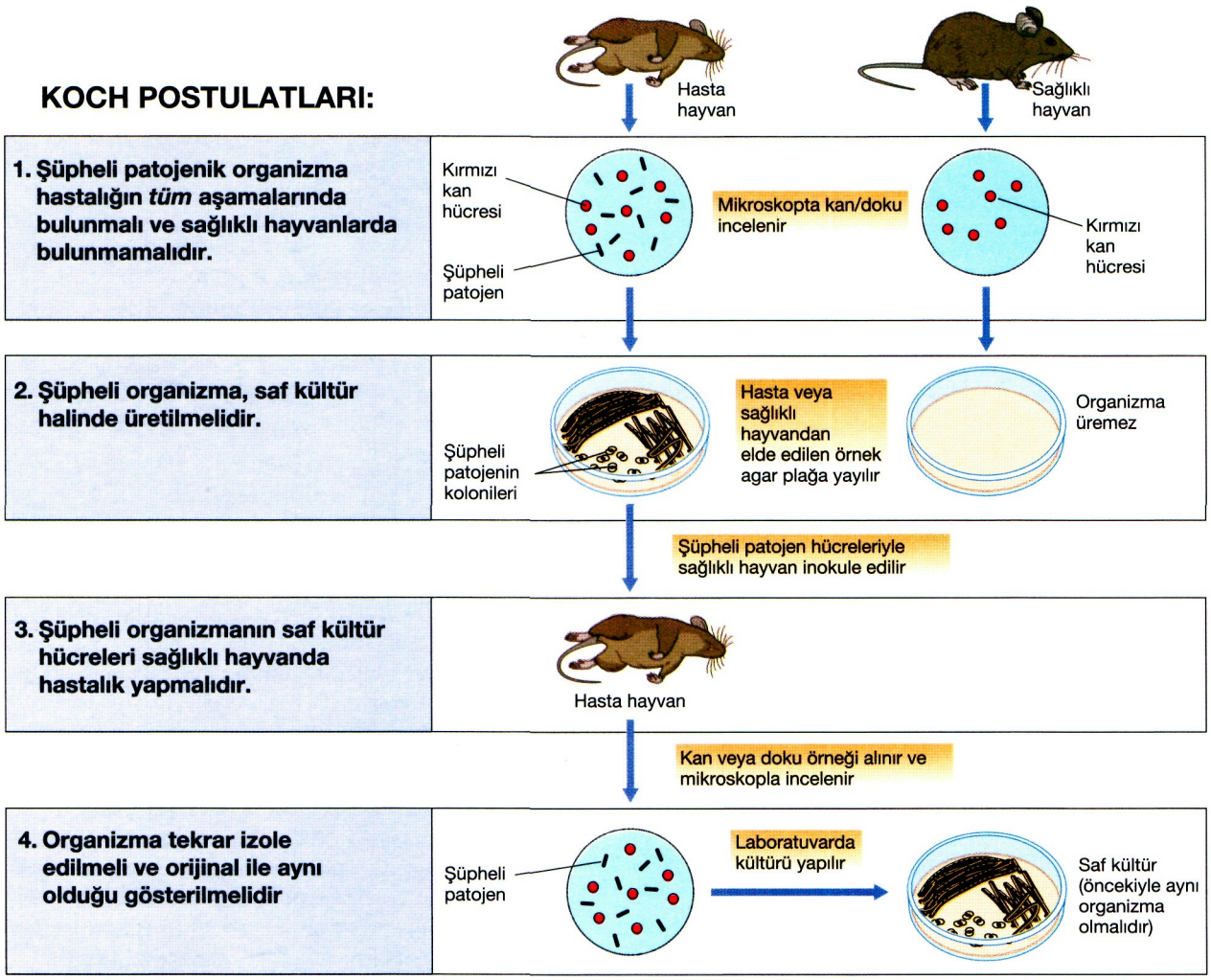
Koch ilk çalışmasında, sığır hastalığı olan ve nadiren insanlarda görülen şarbonu çalışmıştır. Şarbon, endosporlu bir bakteri olan *Bacillus anthracis* tarafından oluşturulur ve enfekte olmuş bir hayvanın kanı bu büyük bakteri ile kaplanır (Kısım 25.13 ve Şekil 25.13). Koch dikkatli mikroskobik gözlemlerle, bakterilerin hasta bir hayvanın kanında her zaman bulunduğunu göstermiştir. Ancak, bakterinin hastalıkla zayıf ilişkisi tek başına hastalığın gerçek *nedeni* olduğunu kanıtlamadı. Bunun yerine, bakteri hastalığın *sonucu* olabilirdi.

Koch deneysel kontroller kullanarak, hastalıklı bir fareden sağlıklı bir fareye az miktarda kanın enjekte edilmesiyle şarbon hastalığının hızla transfer edildiğini gösterdi. İkinci hayvandan kan aldı, bir başkasına enjekte etti ve karakteristik hastalık belirtilerini tekrar elde etti. Ancak Koch bu deneyi kritik öneme sahip bir basamak ileriye götürdü. Bakterilerin, *hayvan vücudu dışında* besin sıvılarında üreyebileceğini gördü ve kültürde birçok transfer sonucunda bile bakteriler, hayvana tekrar aşılandıklarında hala hastalık oluşturabilmişti.

Bu ve diğer deneylere dayanarak, Koch şu an **Koch postulatları** olarak adlandırılan, belirli bir organizmanın belirli bir hastalığa neden olduğunu kanıtlayan aşağıdaki kriterleri geliştirdi.

1. Organizma hasta bir hayvanda her zaman bulunmalı ve sağlıklı bireylerde bulunmamalıdır.
2. Organizma hayvan vücudu dışında saf kültür olarak elde edilebilmelidir.
3. Bu saf kültür, hastalığa duyarlı hayvana inokule edildiğinde, tipik hastalık belirtileri göstermelidir.
4. Bu deney hayvanlarından organizma tekrar izole edilmeli ve laboratuvarda tekrar kültürü yapılmalı ve mevcut orijinal organizmayla aynı olmalıdır.

Koch postulatları Şekil 1.12●'de özetlenmiştir. Koch postulatları, enfeksiyon hastalıkları ile ilgili çalışmada muazzam bir ileri adımdı. Bu postulatlar, enfeksiyon hastalığında neden ve etki bağlantısını kurmanın yanı sıra, laboratuvar kültürünün öneminin de anlaşılmasına hizmet etti. Bu postu-



● **Şekil 1.12** **Koch'un, belirli bir mikroorganizmanın belirli bir hastalığa neden olduğunu kanıtlayan postulatları.** Şüpheli patojenin saf kültürünün izolasyonunu takiben organizmanın laboratuvar kültürünün hem hastalığı başlatması ve hem de tekrar hasta hayvandan elde edilmesinin ne kadar gerekli olduğuna dikkat ediniz. Patojenin üremesi için doğru şartların oluşturulması gereklidir, aksi takdirde belirlenemeyecektir.

latların rehberliğinde Koch ve daha sonraki mikrobiyologlar, insan ve diğer hayvanlarda birçok önemli hastalığın nedenini keşfettiler. Bu keşifler, birçok önemli enfeksiyon hastalığından korunma ve tedavide başarılı yöntemlerin geliştirilmesine öncülük ederek, klinik tıp ve genel insan sağlığının bilimsel temeline büyük katkıda bulundular (Şekil 1.7).

Koch ve Saf Kültürler

Belirli bir mikroorganizmayı, hastalık gibi özel bir olayla ilişkilendirmek için organizma öncelikle kültür halinde izole edilebilmelidir; yani kültür saf olmalıdır. Robert Koch ünlü postulatlarını formule ederken bu kavramı biliyordu (Şekil 1.12) ve Koch, saf bakterileri kültürlerini elde etmek için basit fakat dahice birkaç metot geliştirdi (Bkz Mikrobiyal Ek Bilgi, Katı Besiyerleri, Petri Kabı ve Saf Kültürler).

Koch, bakterileri üretmek için patates dilimi gibi katı besinler kullanarak işe kaba bir şekilde başladı. Fakat, pek çoğu bugün halen kullanılmakta olan daha güvenilir metotları hızlı bir şekilde geliştirdi. Koch, patates dilimi gibi katı bir yüzey, havada inkübe edildiği zaman, her biri farklı renk ve karakteristik yapıda bakteri kolonilerinin geliştiğini gözlemledi. O, her kolooninin, yüzeye düşmüş, uygun besinleri bulmuş ve çoğalmış tek bir bakteri hücresinden oluştuğu sonucuna vardı. Diğer bir ifadeyle, her koloni bir **saf kültürü** temsil etmekteydi. Koch, bu keşfin saf kültürleri elde etmek için basit bir yol olduğunu fark etti. Ancak

bütün organizmalar patates dilimleri üzerinde üremediklerinden, Koch önce jelatin ve sonra agarla katılaştırılmış daha muntazam ve tekrarlanabilir besin solüsyonları geliştirdi (Bkz Mikrobiyal Ek Bilgi).

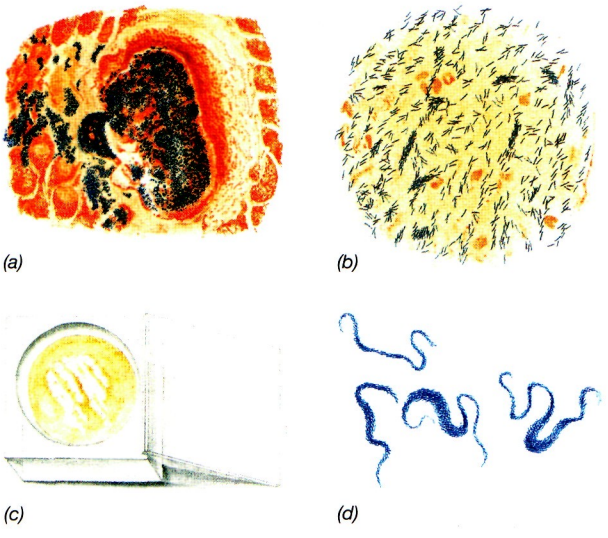
Koch Postulatlarının Test Edilmesi: Tüberküloz

Tüberküloza neden olan etkenin keşfi, Koch'un tıbbi bakteriyoloji alanındaki en büyük başarısıdır. Koch bu çalışmaya başladığında (1881), rapor edilmiş insan ölümlerinin yedide birinin nedeni tüberkülozdu (Şekil 1.7). Tüberkülozun bulaşıcı bir hastalık olduğu konusunda güçlü delil olmasına rağmen, ne hastalıklı dokuda ne de kültür ortamında şüphelenilen organizma asla gözlenmemiştir. Koch, tüberküloza neden olan etkeni ortaya koymak için azmetmişti ve bunun için önceki çalışmalarında dikkatlice geliştirdiği tüm metotları bir araya getirdi: mikroskopi, dokuların boyanması, saf kültür izolasyonu ve bir model hayvan sistemi.

Hücre duvarında büyük miktarlarda mumsu lipidler bulunduğundan dolayı, *Mycobacterium tuberculosis* bakterisinin boyanmasının oldukça zor olduğu şu an iyi bilinmektedir. Fakat Koch, alkali metilen mavisi ile birlikte sadece dokuyu boyayan ikinci bir boya (bismarck kahverengi) kullanarak, dokulardaki *M. tuberculosis* için boyama yöntemi geliştirdi (Koch'un bu metodu, bugün *M. tuberculosis* gibi bakterileri boyamak için kullandığımız asi-de dirençli boyamanın öncüsü idi; Kısım 12.23). Koch bu metodu kullanarak, doku açık kahverengi boyanırken, tüberkülozlu dokuda açık-mavi, çubuk şekilli *M. tuberculosis* hücrelerini gözlemledi (Şekil 1.13●). Bununla birlikte, şarbon üzerindeki önceki çalışmasından, yalnızca tüberkülozla ilgili bir organizmayı belirlemenin yeterli olmadığının farkındaydı. Organizmanın tüberkülozun özgül nedeni olduğunu kanıtlamak için *kültürünü* yapması gerektiğini biliyordu.

M. tuberculosis kültürlerini üretmek kolay değildi, Koch sonuçta, koagule kan serum ortamında kolonileri üretmekte başarılı oldu. Daha sonra, katılaştırıcı ajan olarak henüz kullanılmaya başlanan agarı kullandı. En iyi koşullar altında bile *M. tuberculosis* kültürde yavaş ürer. Ancak Koch'un ısrarı ve sabrı ile, en sonunda, çeşitli insan ve hayvan kaynaklarından organizmanın saf kültürlerinin elde edilmesi başarıldı.

Bu aşamadan sonra, organizmanın tüberküloz hastalığının nedeni olduğunun kesin olarak kanıtlanmasında Koch postulatlarını kullanmak nispeten kolaydı. Kobay, kolaylıkla *M. tuberculosis* ile enfekte edilebilir ve sonuçta sistemik tüberküloza yenik düşer. Koch, hasta kobayların dokularında yoğun *M. tuberculosis* hücrelerini bulundurduklarını ve bu hayvanlardan elde edilen saf kültürlerin, enfekte olmamış hayvanlara hastalığı geçirdiğini gösterdi. Bu şekilde Koch, postulatının dördünü de doğrulamış oldu (Şekil 1.12) ve tüberkülozun nedeni anlaşıldı. Robert Koch, tüberküloza katkılarından dolayı, fizyoloji ve tıp alanında 1905 yılında Nobel Ödülüyle ödüllendirildi.



● **Şekil 1.13 Doku ve laboratuvar kültüründeki *M. tuberculosis* hücreleri ile ilgili Robert Koch'un çizimleri.** Robert Koch *M. tuberculosis*'i izole eden ve tüberküloza neden olduğunu gösteren ilk kişidir. (a) Akciğer dokusundan elde edilen tüberkül boyunca bir kesit. *M. tuberculosis* hücreleri mavi boyanırken akciğer dokusu kahverengi boyanmıştır. (b) Tüberküloz hastasının balgam örneğinde *M. tuberculosis* hücreleri. (c, d) *M. tuberculosis*'in saf kültürde üremesi. (c) Cam bir kutu (kapağı açık) içersinde koagule kan serumlu cam plak üzerinde *M. tuberculosis* üremesi. (d) (c)'deki plakdan *M. tuberculosis* hücrelerini içeren bir koloni alınmış ve 700×'de mikroskobik olarak incelenmiştir; hücreler uzun "kordon benzeri" formlarda görünüyor (Şekil 12.70*b* ile karşılaştırınız). Orijinal çizimler Koch, R 1888'de bulunuyor. "Die Aetiologie der Tuberkulose." *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte* 2:1-88.

1.6 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Louis Pasteur'ün spontan generasyon üzerindeki çalışması, mikroorganizmaların üremesinin kontrolu için metotların gelişmesini sağladı. Robert Koch, enfeksiyon yapan mikroorganizmaların çalışılması için kriterleri ve mikroorganizmaların saf kültürlerinin üretimi için ilk metotları geliştirdi.

- Pasteur'ün ünlü deneyi, spontan generasyon teorisini nasıl ortadan kaldırdı?
- Koch'un postulatları bir hastalıkta neden ve etkiyi nasıl doğrulayabilir?
- Mikroorganizmaların kültürü için katı besiyerleri ne gibi avantajlar sağlar?

Mikrobiyal Ek Bilgi ◆ Katı Besiyerleri, Petri Kutusu ve Saf Kültürler

Robert Koch, bakterileri katı kültür besiyerlerinde üreten ilk kişidir. Koch'un patates dilimlerini katı besiyerleri olarak ilk kullanım çalışmaları problemlerle doluydu. Dilimler üzerinde bakterilerin seçici olarak üremesinin yanında, dilimler çoğunlukla funguslarla aşırı derecede kaplanmaktaydılar. Bu yüzden, bakterileri katı besiyerlerinde üretebilmek için Koch'un daha güvenilir ve tekrarlanabilir yöntemlere ihtiyacı vardı ve cevabını agarda buldu.

Koch, patojenik bakterilerin kültürünü yapmak için kullandığı çeşitli besin sıvılarını katılaştırmak için etken olarak başlangıçta jelatini kullanmış ve cam kutu veya kavanozla kapatarak kontaminasyonu engellediği yatay katı besiyeri plaklarının hazırlanması için bir metot geliştirmiştir (bakınız Şekil 1.13*c*). Nutrient jelatin, çeşitli bakterileri izole etme ve çalışma açısından iyi bir kültür besiyeri olmasına rağmen, en önemlisi insan patojenlerinin çoğunun üremesi için optimum sıcaklık olan 37°C de katı kalmaması dahil bazı dezavantajları vardı. Böylece, çok daha fazla yönlü katılaştırıcı ajana ihtiyaç vardı ve bu durum agarı ortaya çıkarmıştır.

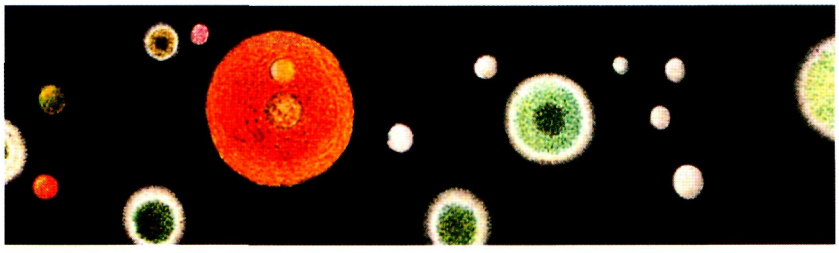
Agar, kırmızı alglerden elde edilen bir polisakkarittir. 19. yüzyılda yoğun olarak jelleştirici ajan olarak kullanıldı. Walter Hesse, ilk kez bakteriyolojik kültür besiyerlerinde katılaştırıcı etken olarak agarı kullandı. Jelatin yerine agarın kullanılması düşüncesi, Hesse'nin karısı Fannie tarafından ortaya kondu. Fannie Hesse, meyve jölelerini hazırlamak için agarı kullanmış ve besiyerlerini katılaştırmada agar kullanıldığında üstün özellikleri hemen görülmüştü. Hesse, bu keşif hakkında Koch'a yazdı ve Koch tüberküloz hastalığının nedeni olan *Mycobacterium tuberculosis* bakterisi üzerindeki klasik çalışmaları da dahil olmak üzere, agarı hemen kendi çalışmalarına uyarladı (metne ve Şekil 1.13'e bakınız).

Agarın, mikrobiyal kültür ortamlarını jelleştirme ajanı olarak tercih edilmesini sağlayan birçok diğer özelliği vardı. Özellikle, agar vücut sıcaklığında katı halde kaldı ve sterilizasyon işlemi sırasında eridikten sonra, steril kaplara dökülebildiği yaklaşık 45 °C'ye kadar da sıvı halde kaldı. Buna ek olarak, bir çok bakterinin parçalayarak ortamın sıvılaşmasına yol açtığı jelatinin aksine, agar pek çok bakteri tarafından parçalanmaz. Bu nedenle, agar mikrobiyoloji tarihinin ilk yıllarında yerini aldı ve günümüzde halen saf bakteri kültürlerinin elde edilmesinde ve saklanmasında kullanılmaktadır.

Richard Petri 1887'de, Koch'un düz plak tekniğinin bir modifikasyonunu tanımlayan kısa bir makale yayımladı. Petri'nin daha sonra oldukça kullanışlı olduğu görülen katkısı, bugün onun adını taşıyan çift taraflı kapların geliştirilmesiydi. Petri kutularının avantajları hemen fark edildi. Petri kutuları kolaylıkla üst üste konulabilir ve besiyerinden ayrı olarak sterilize edilebilirlerdi ve iki kaptan küçüğüne erimiş besiyerinin ilavesini takiben daha büyük kap kontaminasyonu önlemek amacıyla kapak olarak kullanılabilirdi. Petri kabındaki agar yüzeyinde oluşan koloniler tamamen havayla temas halindeydi ve daha sonraki çalışmalar için kolayca kullanılabilirdi. Petrinin ilk tasarımı günümüze kadar geliştirilmedi. İster kuru havayla sterilize edilen ve tekrar kullanılabilen camdan olsun, isterse etilen oksitle steril edilen ve tek kullanımlık plastik olsun, Petri kutusu mikrobiyoloji laboratuvarının temel aracıdır.

Sonuç olarak, Koch'un, kendi geliştirdiği saf kültür metotlarının mikrobiyal sistematik çalışmalarındaki anlamının oldukça farkında olduğu da belirtilmelidir. Koch, kontamine bir madde uygulanmış katı besiyerleri üzerinde farklı kolonilerin geliştiğini, bu koloni formlarının çoğaldıklarını ve birbirlerinden koloni özellikleri ile ayrılabildiğini (renk, morfoloji, büyüklük ve benzeri, bakınız Şekil 1) gözlemlemiştir. Farklı kolonilere ait hücreler mikroskobik olarak ve çoğunlukla sıcaklık veya besin gereksinimleri bakımından da farklıydılar. Koch, mikroorganizmalar arasındaki bu farklılıkların, taksonomistler tarafından bitki ve hayvan türleri gibi daha yüksek organizmaların sınıflandırılması için oluşturulmuş olan tüm kriterlere karşılık geldiğini anlamıştır. Koch'un kendi kelimeleriyle (Almanca'dan çevrilmiştir): "*Aynı kültür besiyerinde ve aynı şartlarda kültürleri yapıldığında birini diğerinden ayıran özellikleri bulunduran tüm bakteriler tür, varyete, form, ve diğer uygun ifadelerle tanımlanmalıdır*". Koch aynı zamanda saf kültür çalışmalarıyla, hastalığa neden olmaları dışında diğer yetenekleriyle de organizmaların özgül etkilerinin olduğunun gösterilebileceğini anlamıştır. Böyle bir düşünce, mikrobiyolojinin bağımsız bir biyolojik bilim olarak hızlı kabulünde önemli idi.

Koch'un katı kültür besiyerlerini keşfi ve saf kültür mikrobiyolojisi üzerine yorumları tıbbi bakteriyoloji alanının çok ötesine geçti. Keşifleri, bakteriyal taksonomi, genetik ve diğer bazı alt branşların gelişmesi için kritik derecede ihtiyaç duyulan araçları sağladı. Gerçekten, saf kültürlerin öneminin kavranmasında ve bazı en temel mikrobiyolojik metotların gelişiminde göstermiş oldukları öngörü için, mikrobiyolojinin tüm alanları Robert Koch ve arkadaşlarına çok şey borçludur. ■



Şekil 1 *Agar üzerinde oluşan kolonilerden Robert Koch'un arkadaşı Walter Hesse tarafından çekilen ve elle renklendirilen bir fotograf. Koloniler fungus (küfler) ve bakterilere ait olup Hesse'in 1882'de Berlin'de (Almanya) havanın mikrobiyolojik içeriği üzerine başlattığı çalışmadan elde edilmişlerdir.* Hesse, W, 1884'den. "Ueber quantitive Bestimmung der in der Luft enthalthenen Mikroorganismen," in Struck (ed.), *Mittheilungen aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamte.* August Hirschwald.

1.7 Mikrobiyal Çeşitlilik ve Genel Mikrobiyolojinin Yükselişi

Mikrobiyoloji 19. yüzyıldan 20. yüzyıla doğru geliştikçe, mikrobiyal çeşitliliği anlamamız önemli oranda arttı. Bu dönemde, mikrobiyolojide bazı alt dallar ortaya çıkarak günümüzdeki "moleküler mikrobiyoloji"ye yöneltmiştir.

Bu alandaki çok önemli iki bilim insanı olan Hollandalı Martinus Beijerinck ve Rus Sergei Winogradsky, bu geçişe öncülük yapmışlardır. Her iki mikrobiyolog da, toprak ve suda bulunan bakterilerle ilgileniyorlardı ve temel olarak bakteriyal çeşitliliğe katkıları yönünden hatırlanırlar. Bu dönem ve moleküler biyoloji dönemine kadar olan daha sonraki yıllar, *genel mikrobiyoloji*'nin en parlak dönemiydi. Genel mikrobiyoloji, mikroorganizmaların çeşitliliği ve fizyolojisi üzerine yoğunluklu olmak üzere esas olarak mikrobiyolojinin tıbbi olmayan yönleriyle ilgilenir.

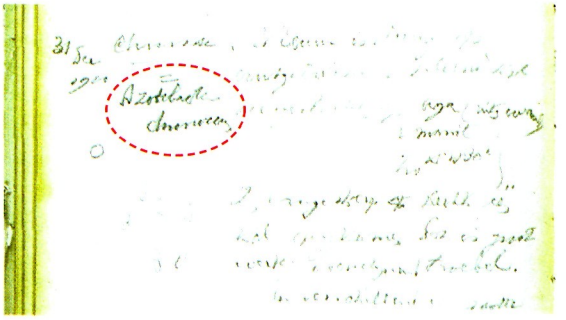
Martinus Beijerinck ve Zenginleştirme Kültür Tekniği

Martinus Beijerinck (1851-1931) Hollanda'daki Delft Politeknik Okulunda bir profesördü, ancak esasen botanik eğitimi almıştı. Bu nedenle, mikrobiyolojideki kariyerine bitkilerin mikrobiyolojisini çalışarak başladı. Beijerinck'in mikrobiyoloji alanına belki de en büyük katkısı, **zenginleştirme kültürünü** açık bir şekilde tanımlamasıydı. Zenginleştirme kültüründe mikroorganizmalar, doğal örneklerden beslenme ve inkübasyon gereksinimlerine dikkat edilerek *seçici* bir şekilde izole edilirler (Kısım 18.1).

Beijerinck, zenginleştirme kültür tekniğini kullanarak aerobik azot fiske eden bakterilerin (Şekil 1.14•), sülfat indirgeyen ve kükürt oksitleyen bakterilerin, azot fiske eden kök nodül bakterilerinin, *Lactobacillus* türlerinin, yeşil alglerin ve daha birçok mikroorganizma dahil birçok toprak ve su kökenli mikroorganizmanın ilk kez saf kültürlerini elde etti. Beijerinck, tütün mozaik hastalığı çalışmalarında seçici filtre teknikleri kullanarak enfeksiyon etkeninin (bir virüs) bakteri olmadığını, ancak bir şekilde konakçı bitki hücresi içerisine girdiğini ve çoğalmak için canlı bitkiye ihtiyaç duyduğunu gösterdi. Beijerinck bu dahiyane çalışmada, sadece ilk virüsü değil aynı zamanda virolojinin temel prensiplerini de açıkladı.

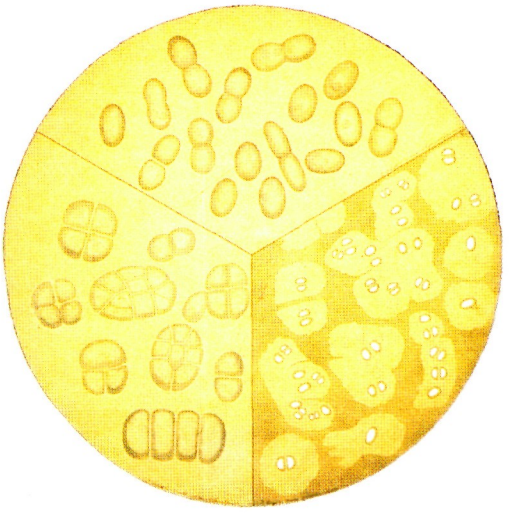
Sergei Winogradsky ve Kemolitotrofi Kavramı

Sergei Winogradsky (1856-1953), Beijerinck'ine benzer bilimsel ilgi alanına sahipti ve aynı şekilde birkaç önemli bakterinin ilk kez izolasyonunda başarılıydı. Winogradsky özellikle, azot ve kükürt bileşiklerinin dönüşümünden sorumlu bakterilerle ilgileniyordu. (Şekil 1.15 ve 1.16•). Bu çalışmasında bakterilerin önemli biyojeokimyasal etkenler olabileceğini göstermiştir. Ayrıca, Winogradsky'nin derin merakı, biyokimyasal işlemlerin *metabolik önemini* ortaya koymuştur. Örneğin, kükürt oksitleyen bakterilerle ilgili çalışmasında Winogradsky, *inorganik* maddelerin oksidasyonunun enerji eldesi ile ilişkisini gösteren **kemolitotrof** terimini ileri sürdü (Şekil 1.16*a*). Winogradsky, nitrifikasyonun kemolitotrofik süreci ile ilgili (amonyağın nitrata oksidasyonu) çalışmalarından, bu olaydan sorumlu organizmaların-nitrifiye edici bakteriler-karbonlarını CO_2'den elde ettikleri sonucuna vardı. Böylece Winogradsky, günümüzde fototrofik olan ototrof



Lesley Robertson and the Kluyver Laboratory Museum, Delft University of Technology

(a)

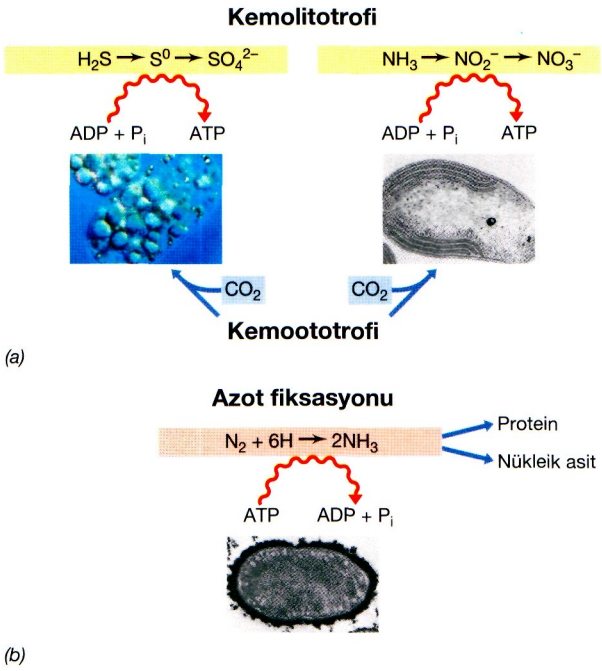


Lesley Robertson and the Kluyver Laboratory Museum, Delft University of Technology

(b)

• **Şekil 1.14** **Martinus Beijerinck ve *Azotobacter*** (a) M. Beijerinck'in 31 Aralık 1990'da aerobik azot fikse eden bakteri *Azotobacter chroococcum* (isim kırmızı halka içerisinde) üzerine gözlemlerini belirttiği laboratuvar defterinden bir sayfa bölümü. Beijerinck, bu ismi ilk kez bu sayfada kullanmaktadır. Beijerinck'in *A. chroococcum* çiftleri çizimini, Şekil 12.19*a*'da verilen *Azotobacter* hücrelerinin fotomikrografı ile karşılaştırınız. (b) M. Beijerinck'in kızkardeşi olan Henriette Beijerinck'in, *Azotobacter chroococcum* hücrelerini gösteren bir çizimi. Bu, bugün derslerde kullanılan bilgisayar projektör, slayt ve asetat günlerinden çok önce olduğundan, Beijerinck, derslerini örneklerle açıklarken bu resimleri kullanmıştır.

● **Şekil 1.15 Fototrofik mor kükürt bakteri hücrelerinin elle renklendirilmiş çizimleri.** Orijinal çizimler yaklaşık 1887'de Sergei Winogradsky tarafından yapılmış ve daha sonra karısı Hélène tarafından kopyalanıp elle renklendirilmiştir. Bu çizimlerde *C. okenii* gibi *Chromatium* cinsinin hücrelerini göstermektedir (Şekiller 3 ve 4). Bugün halen, bu tür bilinmektedir. Şekil 12.4a'da verilen *C. okenii* hücrelerinin fotomikrografı ile karşılaştırınız



● **Şekil 1.16 Sergei Winogradsky tarafından geliştirilen temel kavramlar.** (a) Kemolitotrofi ve kemoototrofi. Kükürt veya azotlu bileşiklerin oksidasyonu enerji açığa çıkarırken, hücredeki karbon CO_2'den elde edilir. Fotoğraflar, solda *Achromatium*; sağda, *Nitrobacter*. (b) Azot fiksasyonu. Bu işlem ATP harcarken, hücrenin tüm azot ihtiyacı için gaz formunda azotu kullanmasını sağlar. Fotoğraf, *Azotobacter*, bir aerobik azot fiske edici (aynı zamanda Şekil 1.14'e bakınız.)

rofik organizmalardan ayırmak için günümüzde *kemoototroflar* olarak adlandırılan organizmaların, ototrof olduklarını ileri sürmüştür (Şekil 1.16*a*).

Winogradsky ayrıca, zenginleştirme yöntemi kullanarak ilk azot fiske eden bakteriyi (anaerob, *Clostridium pasteurianum*) izole etmiş ve bakteriyal N_2 fiksasyon kuramını tanımlamıştır (Şekil 1.16*b*). Yaklaşık 100 yıl yaşayan Winogradsky, *Microbiologie du Sol* (*Toprak Mikrobiyolojisi*) adında önemli bir araştırma kitabı ile beraber birçok bilimsel makale yayımladı. Mikrobiyolojide bir dönüm noktası olan araştırma kitabı, kariyeri boyunca izole ettiği ya da zenginleştirme kültürde veya doğal materyalde çalıştığı birçok organizmanın orijinal çizimlerini içermektedir (Şekil 1.15).

Tablo 1.1'de van Leeuwenhoek'dan günümüze mikrobiyoloji alanındaki bazı önemli bulgular özetlenmiştir.

1.7 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Beijerinck ve Winogradsky toprak ve sudaki bakterileri çalıştılar ve çeşitli fizyolojik grup üyelerinin izolasyonu için zenginleştirme kültür tekniğini geliştirdiler. Zenginleştirme kültürler, kemolitotrofi, kemoototrofi ve azot fiksasyonu dahil olmak üzere mikrobiyolojideki önemli yeni kavramlar bu dönemde ortaya çıktı.

- Zenginleştirme kültür tekniği nedir?
- Şekil 1.16'yı inceleyerek, kükürt oksidasyonu ve nitrifikasyonun neden kemolitotrofik süreçler olarak düşünülürken azot fiksasyonunun düşünülmediğini belirtiniz (*İpucu*: Her olayda ATP'nin katıldığı reaksiyonlara bakınız).

1.8 Mikrobiyolojinin Modern Dönemi

Yirminci yüzyılda mikrobiyoloji alanı iki farklı yönde hızlı şekilde gelişti - uygulamalı mikrobiyoloji ve temel mikrobiyoloji.

Uygulamalı Mikrobiyolojinin Temel Alt Dallarının Gelişmesi

Koch'un elde ettiği pratik ilerlemeler, uygulamalı mikrobiyolojide büyük gelişmelere neden olmuştur. Örneğin, *tıbbi mikrobiyoloji* ve *immünoloji* alanları ortaya çıkmıştır. Bu dallarla pek çok yeni bakteriyal patojen keşfedilmiş, bu patojenlerin vücudu infekte edişi ve vücudun bunlara karşı savunma mekanizmaları aydınlatılmıştır. Beijerinck ve Winogradsky'nin *tarımsal mikrobiyoloji* alanındaki keşiflerinden destek alan uygulama ile ilgili ilk ilerlemeler, bitki büyümesine yardımcı olan azot fiksasyonu gibi topraktaki mikrobiyal süreçlerin anlaşılmasını sağlamıştır. Daha sonra 20. yüzyılda, toprak mikroorganizmaları ile ilgili çalışmalar antibiyotiklerin ve diğer önemli kimyasal maddelerin keşfine yol açmıştır. Bu, ticari ürünlerin üretimi

Tablo 1.1 Mikrobiyolojinin üçyüz yılı: Mikrobiyolojideki bazı anahtar çalışmalar, 1684-2000[a]

Yıl	Araştırıcı(lar)	Keşif
1684	Antoni van Leeuwenhoek	Bakterilerin keşfi
1798	Edward Jenner	Çiçek aşısı
1857	Louis Pasteur	Laktik asit fermentasyonunun mikrobiyolojisi
1860	Louis Pasteur	Alkolik fermentasyonda mayanın rolü
1864	Louis Pasteur	Kendiliğinden oluşum tartışmalarının çöküşü
1867	Robert Lister	Cerrahide antiseptik prensipler
1876	Ferdinand Cohn	Endosporların keşfi
1881	Robert Koch	Saf kültür bakteri çalışma metotları
1882	Robert Koch	Tüberküloz etmeninin keşfi
1882	Élie Metchnikoff	Fagositoz
1884	Robert Koch	Koch postulatları
1884	Christian Gram	Gram boyama metodu
1885	Louis Pasteur	Kuduz aşısı
1889	Sergei Winogradsky	Kemolitotrofi kavramı
1889	Martinus Beijerinck	Virüs kavramı
1890	Emil von Behring ve Shibasaburo Kitasato	Difteri antitoksini
1890	Sergei Winogradsky	Kemolitotrofların ototrofik üremeleri
1901	Martinus Beijerinck	Zenginleştirme kültür metodu
1901	Karl Landsteiner	İnsan kan grupları
1908	Paul Ehrlich	Kemoterapötik ajanlar
1911	Francis Rous	İlk kanser virüsü
1915/1917	Frederick Twort/Felix d'Hérelle	Bakteriyal virüslerin (bakteriyofaj) keşfi
1928	Frederick Griffith	Pnömokok transformasyonunun keşfi
1929	Alexander Fleming	Penisillinin keşfi
1931	Cornelius van Niel	Anoksijenik fotosentezde elektron vericisi olarak H_2S (sülfit)
1935	Gerhard Domagk	Sülfa ilaçlar
1935	Wendall Stanley	Tütün mozaik virüsünün kristallendirilmesi
1941	George Beadle ve Edward Tatum	Bir gen-bir enzim hipotezi
1943	Max Delbruck ve Salvador Luria	Bakterilerde genetik karakterlerin kalıtımı
1944	Oswald Avery, Colin Macleod, Maclyn McCarty	Griffith'in çalışmasının açıklanması-DNA genetik materyaldir
1944	Selman Waksman ve Albert Schatz	Streptomisinin keşfi
1946	Edward Tatum ve Joshua Lederberg	Bakteriyal konjugasyon
1951	Barbara McClintock	Hareketli elemanların keşfi
1952	Joshua Lederberg and Norton Zinder	Bakteriyal transdüksiyon
1953	James Watson, Francis Crick, Rosalind Franklin	DNA'nın yapısı
1959	Arthur Pardee, François Jacob, Jacques Monod	Repressör protein yoluyla gen regülasyonu
1959	Rodney Porter	İmmünoglobulin yapısı
1959	F. Macfarlane Burnet	Klonal seçim teorisi
1960	François Jacob, David Perrin, Carmon Sanchez, Jacques Monod	Operon kavramı
1960	Rosalyn Yalow ve Solomon Bernson	Radyoimmünassay'in (RIA) geliştirilmesi
1961	Sydney Brenner, François Jacob, ve Matthew Meselson	Mesajcı RNA ve protein sentez yerleri olan ribozomlar
1966	Marshall Nirenberg ve H. Gobind Khorana	Genetik kodun keşfi
1967	Thomas Brock	Kaynayan sıcak su kaplıcalarında üreyen bakterilerin keşfi
1969	Howard Temin, David Baltimore, Renato Dulbecco	Retrovirüslerin/revers transkriptazın keşfi
1969	Thomas Brock ve Hudson Freeze	*Taq* DNA polimerazın kaynağı *Thermus aquaticus*' un izolasyonu
1970	Hamilton Smith	Restriksiyon enzimlerinin etkisinin özgüllüğü
1973	Stanley Cohen, Annie Chang, Robert Helling, ve Herbert Boyer	Rekombinant DNA
1975	Georges Kohler, Cesar Milstein	Monoklonal antikorlar
1976	Susumu Tonegawa	İmmünoglobulin genlerinin yeniden düzenlenmesi
1977	Carl Woese ve George Fox	*Archaea*'nın keşfi
1977	Fred Sanger, Steven Niklen, Alan Coulson	DNA dizileme yöntemleri
1981	Stanley Prusiner	Prionların karakterizasyonu
1982	Karl Stetter	Optimum sıcaklığı >100°C olan ilk prokaryotun izolasyonu
1983	Luc Montagnier	AIDS etmeni HIV'in keşfi
1985	Kary Mullis	Polimeraz zincir reaksiyonunun (PCR) geliştirilmesi
1986	Norman Pace	Moleküler mikrobiyal ekoloji
1995	Craig Venter ve Hamilton Smith	Bir bakteriyal genomun tam dizisi
1999	Genomik Araştırma Enstitüsü (TIGR) ve diğerleri	100'ün üzerinde mikrobiyal genom dizisi belirlendi veya devam ediyor
2000	Edward Delong	Denizel *Archaea*'nın keşfi, Proteorodopsinin keşfi
2004	Craig Venter ve diğerleri	Büyük ölçekli ilkçevresel genom: Sargasso Denizi

[a] Buradaki önemli referans kaynaklar arasında Brock, T. D. (1961), *Milestones in Microbiology*, Prentice Hall, Englewood Cliffs, NJ; Brock, T. D. (1990). *The Emergence of Bacterial Genetics*, Cold Spring Harbor Press, Cold Spring Harbor, NY. bulunmaktadır. *Yıl*, keşfin ilk yayınlandığı yılı göstermektedir.

için mikroorganizmaların büyük ölçekli üretimi olan *endüstriyel mikrobiyoloji* alanını ortaya çıkardı.

Toprak mikrobiyolojisindeki ilerlemeler aynı zamanda, göl, nehir ve okyanuslardaki mikroorganizmalar üzerine çalışmalar için de bir temel oluşturdu-*sucul mikrobiyoloji* ve *denizel mikrobiyoloji* alanları. Sucul mikrobiyolojinin bir dalı, kanalizasyon atığının işlenmesi ve insanlar için güvenilir su sağlanması ile ilgili önemli süreçlerle ilglenir. Mikroorganizmaların doğal çevredeki işlevleri ve biyoçeşitlilik üzerine ilginin artmasıyla, 1960 ve 1970'lerde *mikrobiyal ekoloji* alanı ortaya çıktı. Moleküler mikrobiyolojinin bu dala olan katkısıyla mikrobiyal ekoloji şu sıralar ikinci "altın çağını" yaşamaktadır (Şekil 1.17●).

Mikrobiyolojide Temel Alt Bilim Dalları

Mikrobiyolojinin, *uygulamalı* alanlarındaki ilerlemelerin yanı sıra, özellikle moleküler biyoloji kavram ve araçlarını kullananlar başta olmak üzere 20. yüzyılda birçok yeni *temel bilim* alanı gelişmiştir. Geçmiş 65 yıldaki bazı dönüm noktaları Şekil 1.17'de özetlenmiştir.

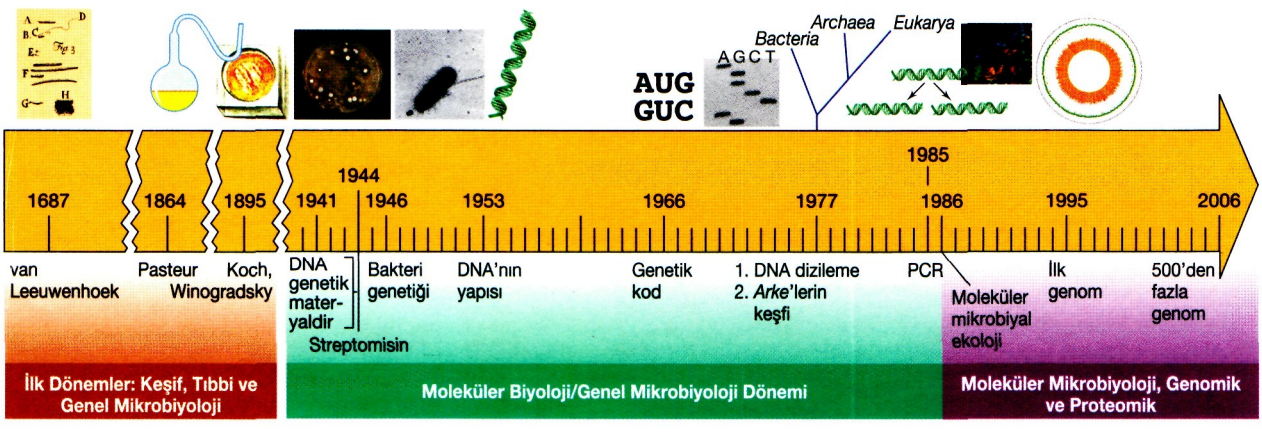
II. Dünya Savaş'ından bu yana çok sayıda yeni mikroorganizmanın keşfi ve sınıflandırılması, mikrobiyal sistematiğin önemli oranda tasfiye edilmesi ve filogenetik yaşam ağacının oluşturulması ile sonuçlanmıştır (Şekil 1.17). Mikroorganizmaların ihtiyaç duyduğu besinler ve sentezledikleri ürünlerin çalışılması *mikrobiyal fizyoloji* alanını geliştirmiştir. Mikroorganizmaların fiziksel ve kimyasal yapılarının detaylı anlaşılması (*sitoloji*) ve mikrobiyal enzimlerin keşfi ve yürüttükleri kimyasal reaksiyonlar da (*mikrobiyal biyokimya*) günümüzdeki mikrobiyolojiye etki etmiştir.

Yirminci yüzyılın ortalarında hızlı bir şekilde ilerleyen temel araştırmaların kilit alanı bakterilerin kalıtım ve varyasyonunu inceleyen *bakteriyal genetik* dalıydı. Bakteri genetiğinin bazı yönleri yirminci yüzyılın başlarında bilinmesine rağmen, bakterilerde genetik değişimin keşfedildiği 1950'lere kadar, bakteri genetiği esas çalışma alanı olmamıştır. Bakteriyal genetik, biyokimya ve fizyoloji özellikle 1950'lerde gelişmiştir. Bindokuzyüzatmış'ların başlarına gelindiğinde bu alanlar DNA, RNA ve protein sentezinin ileri düzeyde anlaşılmasını sağlamıştır. Moleküler biyoloji alanı önemli oranda bakteri genetiği ile ilgili bu çalışmalardan ortaya çıkmıştır (Şekil 1.17).

Virüs çalışmaları da 20. yüzyılda önemli oranda artmıştır. Beijerinck ilk virüsü yaklaşık 100 yıl önce keşfetmesine rağmen, 20. yüzyılın ortasına dek virüslerin gerçek doğası anlaşılamadı. Bu çalışmaların çoğunluğu, bakteriyofaj denilen, bakterileri infekte eden virüs çalışmalarını kapsamaktaydı. Bilim insanları, virüs enfeksiyonunun genetik transfer ile benzer olduğunun farkına vardılar. Virüsler ve diğer genetik elemanlar arasındaki ilişki, temel olarak bakteriyofajlar üzerindeki araştırmalardan elde edilen sonuçlarla aydınlatılmıştır.

Moleküler Mikrobiyoloji Dönemi

1970'lere gelince, bakteri fizyolojisi, biyokimyası ve genetiği ile ilgili bilgilerimiz o derece ilerlemişti ki, hücrelerdeki genetik materyali deneysel olarak kullanmak mümkündü. Restriksiyon enzimlerinin keşfiyle, yabancı kaynaklardan DNA'nın bakterilere aktarılması ve replikasyonunun kontrolu da mümkün olmuştur. Bu da, *biyoteknoloji* alanının gelişmesine neden olmuştur. Yaklaşık bununla aynı zamanda, nükleik asit dizilemesi geliştirilmiş ve sonuçları biyolojinin tüm alanlarında hissedilmiştir. Mikrobiyolojide, dizileme teknolojisi prokaryotlar arasındaki filogenetik (evrimsel) ilişkilerin ortaya çıkarılmasına yardımcı olarak biyolojik sınıflandırma alanında devrimsel yeni görüşlerin ortaya çıkmasını sağlamıştır. Dizileme ayrıca, **genomik**-farklı organizmaların genlerinin karşılaş-



● **Şekil 1.17 Son 65 yılda mikrobiyolojide bazı dönüm noktaları.** Tarihlerin üzerindeki ikon veya fotograflar keşifleri sembolize etmektedir; her biri bu bölümde ele alınmış veya sonraki bölümlerde tekrar değinilecektir.

tırmalı analizi-alanının doğmasını sağlamıştır. Şu an mevcut genomik bilginin büyük bir bölümü tıp, mikrobiyal ekoloji, endüstriyel mikrobiyoloji ve biyolojinin pek çok diğer alanlarında önemli ilerlemelere neden olmaktadır. Gerçekten, genomik dönem tüm gücüyle bizi etkilemekte (Şekil 1.17) ve şimdiden yeni bir alt dalın yani **proteomik**'in - hücrelerde protein ifadesinin çalışılması – ortaya çıkmasına neden olmuştur. Bölüm 15'de genomik ve proteomik daha detaylı olarak ele alınacaktır.

Yeni Keşif Alanları

Mikrobiyolojinin yaklaşık 350 yılı yalnızca bize şaşırtıcı öngörüler vermekle kalmayıp, iyi ve kötü yeni sorunlara neden olmuştur. Bir yandan, SARS ve ondan önce görünen AIDS gibi yeni oluşan hastalıklar hiçbir uyarı yapmadan ortaya çıkmış görünmekte ve mikrobiyal hastalıklarla ilgili en karmaşık kavrama gücümüze bile meydan okumaktadırlar. Diğer yandan, yeni araştırma keşifleri bizleri hücrenin en temel düzeyde nasıl çalıştığını anlamanın eşiğine getirmiş ve yeni bulunan bakteriler bildiğimiz mikrobiyal çeşitliliğin devasa alanını daha da esnetmiştir. Minimalist genomu-yaşam için gerekli olan asgari genler bütünü-ortaya çıkarmakta kullandığımız genomik sayesinde, yaşam için gerekli olan ön koşulları çok yakında tam olarak açıklayabiliriz. Laboratuvar üretimi bir hücrenin oluşturulması, o kadar da uzak olabilir mi?

Son dönem evrimsel biyologlardan Stephen Jay Gould'un da belirttiği gibi bu "bakteri çağı"dır. Bilimi öğrenmek için ne muhteşem bir zaman! Mikrobiyolojiye hoş geldiniz!

1.8 Kavramların Gözden Geçirilmesi

20. yüzyılın ortasından sonraki bölümünde, temel ve uygulamalı mikrobiyoloji moleküler mikrobiyolojinin günümüzdeki dönemini başlatmak için birlikte çalışmıştır.

- İlgi alanı, metabolizma; enzimoloji; nükleik asit ve protein sentezi; mikroorganizmalar ve doğal çevreleri olan mikrobiyoloji alt dallarını yazınız.

DEĞERLENDİRME SORULARI

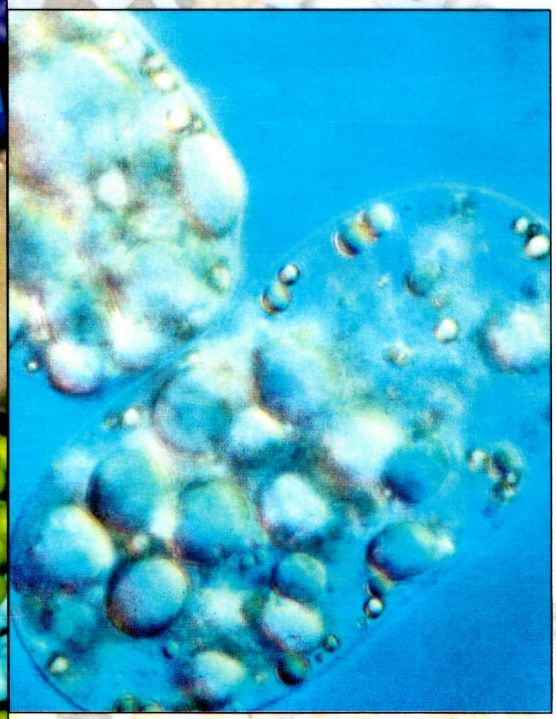
1. Canlılıkla ilgili olan altı anahtar özelliği sıralayınız. Bunlardan hangileri hücrelerin ortak özellikleridir? Hangileri yalnızca *bazı tip* hücrelerin özellikleridir? (Kısım 1.1 ve 1.2).
2. Hücreler hem makine hem de kodlama aracı olarak düşünülebilir. Hücrenin bu iki özelliğinin nasıl farklılaştığını açıklayınız (Kısım 1.2).
3. Hücrede translasyonun olması için neye ihtiyaç vardır? Translasyon işleminin ürünü nedir (Kısım 1.2)?
4. Ekosistem nedir? Mikroorganizmalar, ekosistemde saf kültür halinde bulunurlar mı? Mikroorganizmaların, ekosistem üzerine nasıl etkileri vardır (Kısım 1.3)?
5. Mikroorganizmaların yalnızca hastalık etkeni olmaktan çok daha fazla işleve sahip olduklarına, bir arkadaşınızı nasıl ikna edersiniz (Kısım 1.4)?
6. Hooeke ve van Leewenhoek, mikrobiyolojideki hangi katkılarından dolayı hatırlanmaktadır? Ferdinand Cohn bakteriyolojiye nasıl katkı yapmıştır (Kısım 1.5)?
7. Saf kültür nedir ve nasıl elde edilebilir? Saf bir kültürün nasıl elde edildiği bilgisi mikrobiyoloji biliminin gelişmesinde niçin önemliydi (Kısım 1.6)?
8. Spontan generasyon üzerindeki çalışmalarda Pasteur balonunun kullanımının arkasındaki prensibi açıklayınız (Kısım 1.6).
9. Katı kültür besiyerlerinin bulunuşunun, mikrobiyolojinin bir bilim olarak gelişmesinde niçin büyük önemi olduğunu açıklayınız (Kısım 1.6).
10. Koch postulatları nelerdir ve mikrobiyolojinin gelişmesini nasıl etkilemişlerdir? Bugün halen niçin geçerlidirler (Kısım 1.6)?
11. İlk mikrobiyologlardan Martinus Beijerinck'in mikrobiyolojiye önemli katkısını açıklayınız (Kısım 1.7).
12. Sergei Winogradsky'e hangi önemli kavramları borçluyuz (Kısım 1.7)?
13. İkinci Dünya Savaşından bu yana mikrobiyolojide hangi önemli ilerlemeler olmuştur (Kısım 1.8)?

UYGULAMA SORULARI

1. Pasteur'ün spontan generasyon üzerindeki deneyleri, birkaç isim vermek gerekirse, mikrobiyolojinin metodolojisi, yaşamın kökeni hakkındaki fikirler ve gıdaların korunması üzerindeki etkisinden dolayı mikrobiyolojinin ilerlemesi için çok büyük önem taşımaktaydı. O'nun denemelerinin etkisinin bu konularda nasıl hissedildiğini kısaca açıklayınız.
2. Robert Koch'un *Mycobacterium tuberculosis* bakterisi ile tüberküloz hastalığını kesin olarak ilişkilendirmek için kullandığı çeşitli kanıtları açıklayınız. Bakteriyal hastalıkları çalışmak için geliştirdiği araçlardan herhangi birisi tüberküloz çalışmasında mevcut olmasaydı, bu deliller nasıl yetersiz kalırdı?

2

MİKROBİYAL YAŞAMA GENEL BİR BAKIŞ



I HÜCRE YAPISI VE EVRİMSEL GEÇMİŞ 22

2.1 Hücrenin Elemanları ve Viral Yapı **22**
2.2 Mikrobiyal Hücrelerde DNA'nın Düzenlenmesi **24**
2.3 Yaşam Ağacı **26**

II MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİK 28

2.4 Mikroorganizmaların Fizyolojik Çeşitliliği **28**
2.5 Prokaryotik Çeşitlilik **30**
2.6 Ökaryotik Mikroorganizmalar **35**

Mikrobiyal çeşitliliğin alanı çok geniştir ve mikroorganizmalar, fizik ve kimyanın kanunları ile uyumlu bir yaşam oluşturmak için her yolu kullanmaktadır.

BÖLÜMLE İLGİLİ SÖZLÜK

Archaea *Bacteria* üyelerinden farklı olan filogenetik ilişkili prokaryotlar
Bacteria *Archaea'den* farklı olan filogenetik ilişkili prokaryotlar
Domain biyolojik sınıflandırmanın en üst seviyesi
Ekstremofil bir veya daha fazla çevresel ekstremde optimal olarak üreyen organizma
Endosimbiyoz *Bacteria* soyundan kloroplast ve mitokondrilerin oluştuğu süreç
Eukarya bütün ökaryotik hücrelerin dahil olduğu yaşam domaini
Evrim bir tür içerisinde zamanla yeni tür ve varyeteler oluşturan bir atasal soydaki değişim
Filogeni organizmalar arasındaki evrimsel ilişki
Fototrof enerjisini ışıktan elde eden organizma
Genom bir organizmadaki genlerin tamamı
Kemolitotrof enerjisini inorganik bileşiklerin oksidasyonuyla elde eden organizma
Kemoorganotrof enerjisini organik bileşiklerin oksidasyonuyla elde eden organizma
Kromozom hücrenin işlevi için gerekli genleri içeren genetik eleman
Morfoloji hücre şekli
Nükleoid *Bacteria* ve *Archaea* hücrelerinin kromozomlarını oluşturan yoğunlaşmış DNA kütlesi
Nükleus ökaryotik hücrelerde kromozomu içeren membranla çevrili yapı
Organel ökaryotik hücrelerin sitoplazmasında bulunan birim membranla çevrili mitokondri veya kloroplast gibi yapılar
Ökaryot membranla çevrili bir nükleusu ve genellikle diğer organelleri olan hücre
Plazmit üreme için gerekli olmayan ekstrakromozomal genetik element
Prokaryot membranla çevrili bir nükleusu ve diğer organelleri olmayan hücre
Proteobakteriler *Escherichia coli* gibi pek çok gram negatif bakteriyi içeren büyük bir *Bacteria* şubesi
Ribozom protein sentezinde görev yapan sitoplazmik parçacık
Sitoplazma sitoplazma membranı ile çevrili nükleus haricindeki (eğer varsa) hücresel içerik

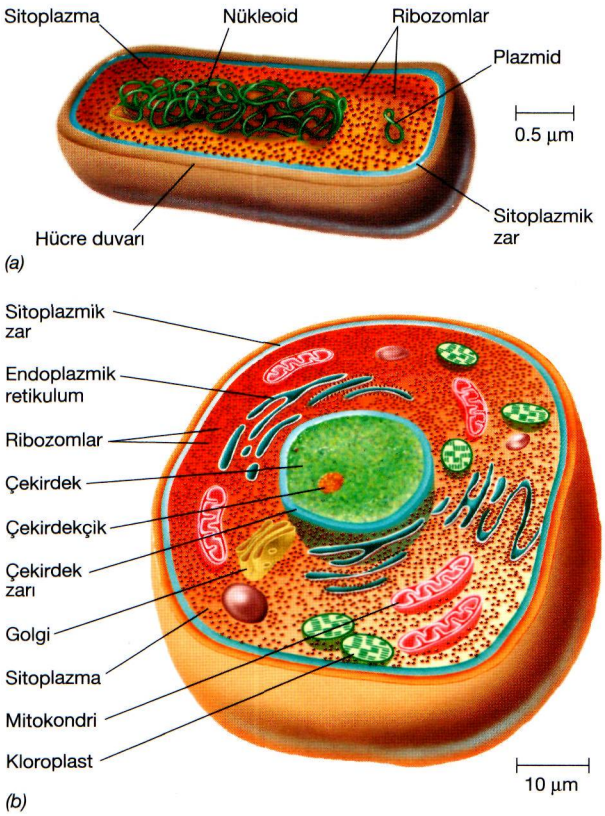
I HÜCRE YAPISI VE EVRİMSEL GEÇMİŞ

Bu bölümde, kitabın kalanında devam edecek olan mikrobiyal çeşitlilik ve hücre yapısı ve fonksiyonunun anahtar kavramları tanıtılacaktır. Burada, mikrobiyal hücrelerin iç yapısını karşılaştıracak, hücreleri virüslerden farklılandıracak, evrimsel yaşam ağacını keşfedecek ve gezegenimiz ve yaşamımızı etkileyen bazı önemli mikroorganizma gruplarını ele alacağız.

Hücre yapısıyla ilgili bildiklerimizin çoğu, ışık ve elektron mikroskopu ile yapılan çalışmalar dahil, mikroskop çalışmalarından gelmiştir. Bu nedenle, bu bölümde bazı ışık ve elektron mikrograflarını (mikroskop altında çekilen fotograflar) sunacağız. Ancak, hücre yapısının daha detaylı değerlendirilmesine giriş yapmak üzere mikroskoplarla ilgili esas tartışmayı dördüncü bölüme kadar erteleyeceğiz.

2.1 Hücrenin Elemanları ve Viral Yapı

Bütün hücrelerin pek çok ortak özelliği vardır ve birçok aynı veya işlevsel olarak aynı elemanları içerirler. Bütün hücrelerin, **sitoplazmik zar** adlı ve hücre içerisini dışarıdan ayıran bir bariyeri vardır (Şekil 2.1●). Hücrenin ihtiyaç duyduğu besinlerin ve diğer maddelerin girdiği, atık maddeler ve diğer hücresel ürünlerin çıktığı kısım sitoplazmik zardır. **Sitoplazma** adı verilen kompleks maddeler



● **Şekil 2.1 Mikrobiyal hücrelerin iç yapısı.** (a) Prokaryotik bir hücre şekli. (b) Ökaryotik bir hücre şekli. Ölçek ve iç yapılardaki farklılıklara dikkat ediniz.

ve yapılar karışımı, hücre içerisinde ve sitoplazma membranı ile çevrili olarak bulunur. Suda çözünmüş veya asılı olarak bulunan bu maddeler ve yapılar, hücresel fonksiyonları gerçekleştir.

Sitoplazma içerisinde çözünmüş olarak bulunan önemli bileşenlere makromoleküller (iki önemli sınıfı *proteinler* ve *nükleik asitler*dir), küçük organik moleküller (esas olarak makromoleküllerin öncülleri) ve çeşitli inorganik iyonlardır. Hücrenin *protein sentezleme* fabrikaları olan **Ribozomlar**, ribonükleik asit (RNA) ve çeşitli proteinlerden oluşan partiküllü yapılardır ve sitoplazmada asılı halde bulunurlar. Ribozomlar, *protein sentezi* (translasyon) sırasında birkaç sitoplazmik protein, mRNA ve tRNA'larla ilişki kurar (Şekil 1.4).

Hücre duvarı hücreye yapısal dayanıklılık sağlar. Hücre duvarı nispeten geçirgendir ve membran dışında bulunur (Şekil 2.1*a*); membrandan çok daha dayanıklı bir yapıdır. Bitki hücrelerinin ve pek çok mikroorganizmanın hücre duvarları varken, hayvan hücrelerinin genel olarak hücre duvarları yoktur. Bunun yerine hayvan hücreleri sitoplazma içerisinde *hücre iskeleti* adlı bir iç iskeletle sağlamlaştırılmıştır.

Ökaryotik Hücreler

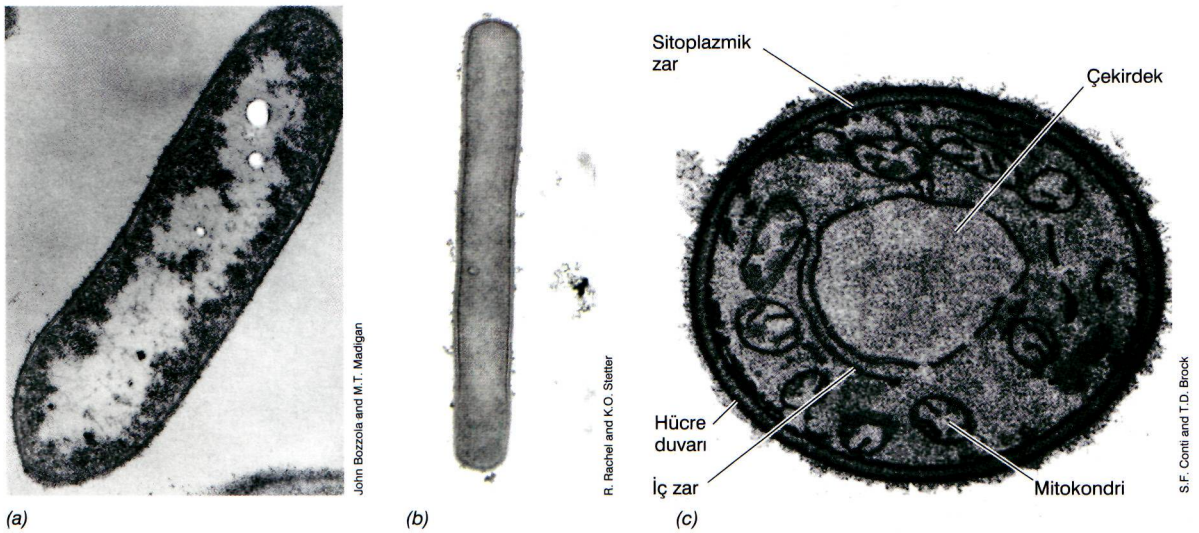
Hücrelerin iç yapısının incelenmesi **prokaryot** ve **ökaryot** olarak iki yapısal tipi ortaya koymaktadır (Şekil 2.1). Ökaryotik hücreler genel olarak prokaryot hücrelerden daha büyük ve yapısal olarak daha komplekstirler. Ökaryotik mikroorganizmalara **algler**, **funguslar** ve **protozoalar** dahildir (bakınız Şekil 2.23 ve 2.24). Tüm çok hücreli bitki ve hayvanlar ökaryotik hücrelerden oluşmuştur. Bölüm 14'de ökaryotik hücreleri daha detaylı olarak ele alacağız.

Ökaryotik hücrelerin prokaryotik hücrelerde olmayan önemli bir özelliği, *organel* adlı membranla çevrili yapıların bulunmasıdır. Buna, birinci ve en önemli olarak *nükleus*, fakat ayrıca *mitokondriler* ve *kloroplastlar* (yalnızca fotosentetik hücrelerde) dahildir (Şekil 2.1*b*, 2.2*c*●). Nükleus, hücrelerin genetik bilgi (DNA, "genom") deposudur ve ayrıca ökaryotik hücrelerde transkripsiyon bölgesidir. Mitokondriler solunumu ve kloroplastlar da fotosentezi gerçekleştirerek enerji üretiminde özel rol oynarlar.

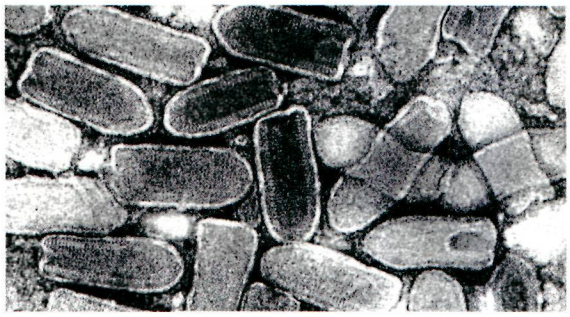
Prokaryotik Hücreler

Ökaryotik hücrelerin aksine, prokaryotik hücrelerin membranla çevrili organellerin bulunmadığı daha basit bir iç yapısı vardır (Şekil 2.1*a* ve 2.2*a*, *b*). Prokaryotlar ***Bacteria*** ve ***Archaea*** üyelerini içerir. *Bacteria* ve *Archaea* türleri prokaryotik hücre yapısında olmasına rağmen, evrimsel geçmişleri açısından önemli ölçüde farklıdırlar. Bu kitapta küçük harf "b" ile yazılan *bacteria* terimi *prokaryot* terimi ile sinonimdir. Bunun aksine, *Bacteria* (*Bakteriler*) terimi (büyük harf "B" ile ve italik yazılan) *Archaea* (*Arkeler*)'den (bakınız Kısım 2.3) farklı olan filogenetik ilişkili prokaryot grubunu ifade etmektedir.

Özellikle prokaryotik hücreler olmak üzere mikrobiyal hücreler genelde çok küçüktür. Örneğin, çubuk şeklinde bir prokaryot tipik olarak 1-5 mikrometre (µm) uzunluğunda ve yaklaşık 1 µm enindedir (1 µm 10^{-6} metredir) ve bu yüzden çıplak gözle görülemez. Bir bakterinin ne kadar küçük olduğunu anlamak için, her biri 1 µm uzunluğunda olan 500 bakterinin bu cümlenin sonundaki noktanın bir ucundan diğer ucuna uç uca eklenebileceğini düşününüz. Ökaryotik hücreler genellikle prokaryotik hücrelerden çok daha büyüktürler. ökaryotik hücrelerin büyüklükleri 3 mikrometerden birkaç 100 mikrometreye kadar değişebilir. Hücre büyüklüğü konusunu Bölüm 4'de daha detaylı olarak tekrar göreceğiz.

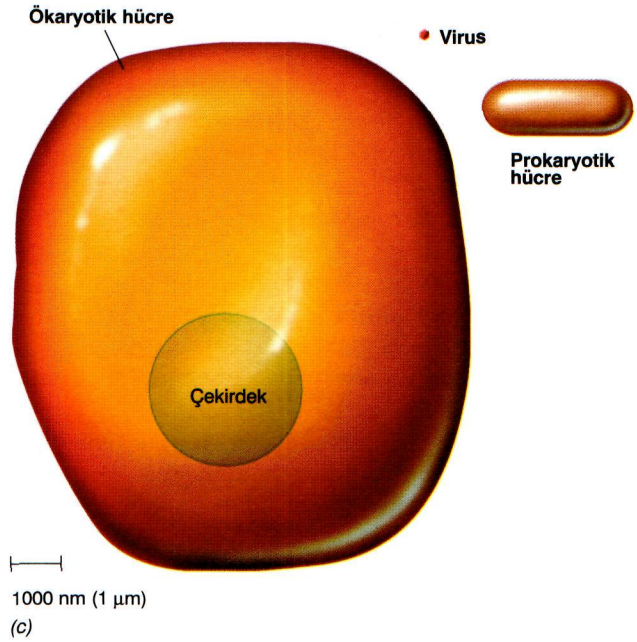


● **Şekil 2.2 Canlı organizmaların her domaininden kesiti alınmış hücrelerin elektron mikrografları.** (a) *Heliobacterium modesticaldum* (*Bacteria*); hücre ölçüsü 1 × 3 µm. (b) *Methanopyrus kandleri* (*Archaea*); hücre ölçüsü 0.5 × 4µm. [Reinhard Rachel and Karl O. Stetter, 1981. Archives of Microbiology 128:288–293. © Springer-Verlag Gmb H & Co. KG]. (c) *Saccharomyces cerevisae* (Ökarya); hücre ölçüsü 8 µm çapında.



(a)

(b)



(c)

● **Şekil 2.3 Virüs yapısı, virüsler ve hücrelerin büyüklüğünün karşılaştırılması.** (a) Rhabdovirüs (ökaryot virüsü) parçacığı. Tek bir virüs parçacığı yaklaşık 65 nm (0.065 µm) çapındadır. (b) bakteri virüsü (bakteriyofaj) lambda. Her parçanın baş kısmı yaklaşık 65 nm çapındadır. (c) Bakteri ve ökaryotik hücreye nazaran, (a) ve (b)'de gösterilen virüslerin büyüklüğü.

Virüsler

Virüsler önemli bir mikroorganizma sınıfı olmalarına rağmen hücre değildirler (Şekil 2.3●). Virüslerde, en önemlisi besinleri alan ve atıkları atan dinamik açık sistemleri bulunmaması yanında, hücrenin pek çok özelliği eksiktir. Bunun yerine, bir virüs parçacığı oldukça kararlı, parçalarını değiştiremeyen veya yenileyemeyen statik bir yapıdır. Virüs yalnızca bir hücreyi enfekte ettiği zaman, canlı bir sistemin anahtar özelliği olan üreme yeteneğini kazanır. Virüslerin hücrelerden farklı olarak metabolik yetenekleri yoktur. Kendi genomları olmasına rağmen ribozom yoktur ve bundan dolayı protein sentezi için tümüyle hücrenin biyosentez mekanizmasına bağımlıdırlar.

Virüslerin, mikrobiyal hücreler dahil bütün hücreleri enfekte ettikleri bilinmektedir. Pek çok virüs enfekte ettiği organizmada hastalığa neden olur. Bununla birlikte, viral enfeksiyonların hücrenin yeteneklerini artırabilen genetik değişiklikler de dahil olmak üzere, hücrelerde pek çok yararlı etkileri de olabilir. Virüsler, bilinen en küçük virüslerin yalnızca yaklaşık 10 nanometre (0.010 µm) çapında olması ile, hücrelerden çok küçüktürler ve prokaryotik hücrelerden de çok daha küçüktürler (Şekil 2.3).

2.1 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Bütün mikrobiyal hücreler sitoplazma membranı, ribozomlar ve (genellikle) hücre duvarı gibi bazı temel yapıları bulundurur. Prokaryot ve ökaryot olmak üzere iki yapısal hücre tipi bilinmektedir. Virüsler hücre olmamalarına rağmen, üremek için hücrelere bağımlıdırlar.

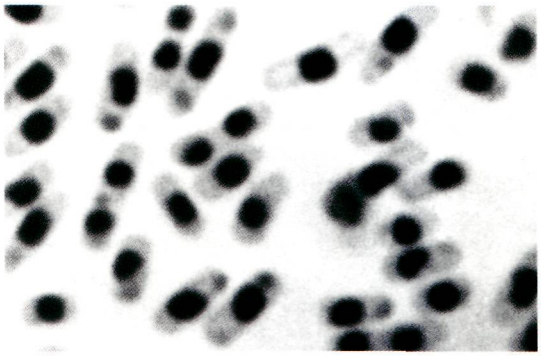
- Hücrenin içerisine bakarak *prokaryotik* veya *ökaryotik* olduğunu nasıl söyleyebilirsiniz?
- Ribozomlar hücrelerde hangi önemli görevleri yerine getirir?
- Tipik bir çubuk şeklinde bakteri ne kadar uzundur? Bu tek hücreden siz ne kadar daha uzunsunuz?

2.2 Mikrobiyal Hücrelerde DNA'nın Düzenlenmesi

Hücrelerin yaşam prosesleri onların tüm genleriyle (**genom**) yönlendirilir. Hücrelerde bir proteini (haberci RNA aracılığıyla) veya ribozomal RNA veya transfer RNA gibi diğer bir RNA molekülünü kodlayan DNA parçası, gen olarak tanımlanabilir. Bakterilerden insanlara kadar çeşitli organizma genomlarının dizilenmesi ve analiz edilmesinde gerçekleşen hızlı ilerlemeleri Bölüm 15'de inceleyeceğiz. Bu ilerlemeler, yüzlerce farklı organizmanın detaylı genetik şifresini sağlamış ve ayrıca kapsamlı ve detaylı karşılaştırmaların yapılmasını mümkün kılmıştır. Burada yalnızca, genomların prokaryotik ve ökaryotik hücrelerde nasıl organize olduğunu inceleyeceğiz.

Nükleoide Karşı Nükleus

Ökaryotik ve prokaryotik hücrelerin genomları farklı şekilde düzenlenir. Prokaryotik hücrelerde DNA, *bakteri kromozomu* adı verilen büyük çift zincirli bir molekül olarak bulunur. Kromozom **nükleoid** (Şekil 2.4●) adındaki görünür kütleyi oluştur-



(a)

(b)

● **Şekil 2.4 Nükleoid. (a) Nükleoidi görünür yapacak bir yolla muamele edilmiş *E. coli* hücrelerinin fotomikrografı.** Tek bir hücre yaklaşık 3 μm uzunluğundadır. (b) *E. coli* hücresinden serbest kalmış, izole edilmiş bir nükleoidin elektron mikrografı. Yüksek oranda yoğun olan nükleoidin hücreden bozunmadan çıkması için, hücre nazikçe parçalanmıştır.

mak için bir bölgeye toplanır. Pek çok prokaryotda DNA'nın halkasal olduğunu Bölüm 7'de göreceğiz. Çoğu prokaryotun yalnızca bir *tek* kromozomu vardır. Bu nedenle, her genden tipik olarak *tek kopya* içerirler ve böylece genetik olarak *haploit* tirler. Pek çok prokaryot ayrıca, **plazmit** adındaki az miktarlarda halkasal ekstrakromozomal DNA'yı da içerir. Plazmitler tipik olarak hücreye özel karakterler veren (özgün metabolik özellikler gibi) genleri içerirler. Bu, kromozomda bulunan ve temel yaşam için gerekli olan lüzümlu ("hizmetçi") genlerden farklıdır.

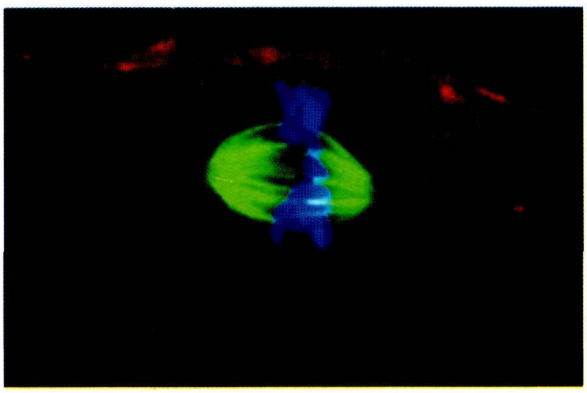
DNA ökaryotlarda, nükleus içerisinde **kromozomlar**da paketlenmiş ve düzenlenmiş doğrusal moleküller olarak bulunur. Kromozom sayısı organizmaya göre değişir. Örneğin ekmek mayası olan *Saccharomyces cerevisiae* 8 çift olarak düzenlenmiş 16 kromozom içerirken insan hücreleri 46 kromozom (23 çift) içerir. Ökaryotlardaki kromozomlar DNA'nın yanı sıra, DNA'nın katlanma ve paketlenmesine yardımcı olan proteinler ve gen ifadesi için ihtiyaç duyulan diğer proteinleri içerir. Prokaryotlar ve ökaryotlar arasındaki anahtar genetik fark, ökaryotların tipik olarak her genin *iki kopyasını* içermesi ve bu nedenle genetik olarak *diploit* olmalarıdır. Ökaryotik hücrelerde hücre bölünmesi sırasında, nükleus **mitoz** adı verilen işlemle bölünür (kromozom sayısının iki katına çıkmasını takiben) (Şekil 2.5●). Birbiriyle aynı iki yavru hücre oluşur ve her yavru hücre tam bir gen takımını içeren nükleusu alır.

Ökaryotik hücrelerin diploit genomu eşeyli üreme için haploit gametleri oluşturmak için mayozla yarıya indirilir. Zigot oluşumu sırasında iki gametin birleşmesi hücreyi diploit durumuna getirir. Bölüm 14'de bu işlemleri daha detaylı olarak tartışacağız.

Genler, Genomlar ve Proteinler

Bir hücrede kaç gen ve protein vardır? Tipik bir bakteri olan *Escherichia coli*'nin genomu 4.68 milyon baz çiftlik DNA'dan oluşan halkasal bir kromozomdur. *E. coli* genomu tümüyle dizilenmiş olduğundan, onun yaklaşık 4,300 gen içerdiğini de biliyoruz. Bazı bakteri hücrelerinin genomları yaklaşık bu sayının üç katı gen içerirken, diğerlerinin genomları bu sayının sekizde birinden daha az gen içerir. Ökaryotik hücrelerin tipik olarak prokaryotlardan çok daha büyük genomları vardır. Örneğin, bir insan hücresi *E. coli* hücresindekinden 1,000 kattan daha fazla DNA ve yaklaşık 7 kat daha fazla gen içerir (ökaryotik hücrelerdeki DNA'nın çoğunun kodlanmayan DNA olduğunu daha ileride göreceğiz).

Tek bir *E. coli* hücresi yaklaşık 1,900 *farklı tipte* protein ve yaklaşık *toplam* 2.4 milyon protein molekülü içerir (Tablo 3.2). *E. coli*'de bazı proteinler çok fazla iken, bazıları orta miktarda ve bazıları da bir veya birkaç kopya olarak bulunur.



● **Şekil 2.5 Boyanmış keseli sıçan hücrelerinde mitoz.** Hücre mitoz bölünmenin *metafaz* basamağındayken fotoğraflanmıştır. Yeşil renk, kromozomların ayrılmasında önemli olan *tubilin* adlı proteini (Kısım 14.5) boyar. Mavi renk, DNA'ya bağlanan boyadan kaynaklanır ve kromozomları gösterir. Mitoz, ökaryotik hücrelerin hücre döngüsünün tamamlayıcı bir parçası olmasına rağmen prokaryotlarda oluşmaz.

Böylece, *E. coli*'nin genlerinin ifadesinin kontrolü için mekanizmalar bulunmaktadır ve bu şekilde bütün genler aynı derecede ve aynı zamanda ifade edilmez (yazılmaz ve çevrilmez, Şekil 1.4). Bu, prokaryot ve ökaryot hücrelerin tümünde ortak bir gözlemdir. Gen ifadesinin ana mekanizmalarına Bölüm 8'de yoğunlaşacağız.

2.2 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Genler hücrelerin özelliklerini kontrol eder ve bir hücrenin gen takımı onun genomu olarak adlandırılır. Hücrelerde DNA, kromozomları oluşturmak üzere düzenlenir. Prokaryotlarda genelde tek bir halkasal kromozom varken ökaryotlarda birkaç doğrusal kromozom bulunur.

- Nükleus ve Nükleoidi karşılaştırarak farklılıklarını belirtiniz.
- Plazmitler, kromozomlardan hangi açılardan farklıdır?
- Bir insan hücresinin bir bakteri hücresinden daha fazla geni olması neden mantıklıdır?

2.3 Yaşam Ağacı

Evrim bir tür içerisinde zamanla yeni tür ve varyeteler oluşturan bir atasal soydaki değişimdir. Hücre yapısı evrimsel bir belirleyicimidir? Bu sorunun cevabı hem "evet" hem de "hayır"dır. Yaşam formları arasındaki evrimsel ilişki **filogeni** biliminin konusudur. Diğer yandan, bütün bilenen prokaryotik hücrelerin filogenetik açıdan ökaryotlardan farklı olduğunu söyleyebiliriz. Fakat başka bir açıdan da, bütün prokaryotik hücreler evrimsel bağlamda yakın ilişkili değildirler; *Bacteria* ve *Archaea* filogenetik olarak farklıdır.

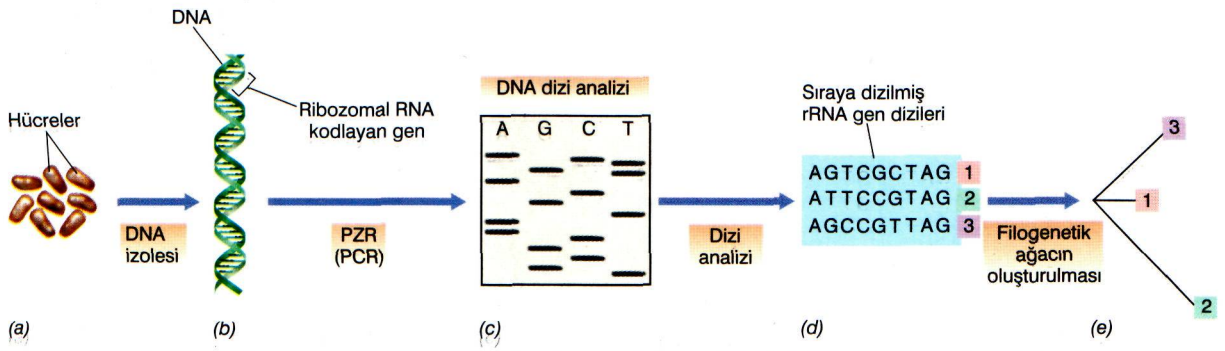
Filogenetik ilişkiler bazı moleküllerin dizilerinin karşılaştırılmasıyla ortaya çıkarılabilir. Bölüm 11'de tartışılacak nedenlerden dolayı, özellikle *ribozomal* RNA'lar olmak üzere ribozomları oluşturan makromoleküller, evrimsel ilişkileri saptamak için mükemmel araçlardır. Bütün hücrelerde ribozom bulunduğundan (ve bu yüzden ribozomal RNA), prokaryotik ve ökaryotik bütün canlıların filogenetik ağacının oluşturulmasında bu molekül kullanılabilir ve kullanılmıştır (bkz. Şekil 2.7). Filogenetik ilişkilerin tasarımı için ribozomal RNA'nın bir araç olarak tanımlanması ilk kez Amerikalı bir mikrobiyolog olan Carl Woese tarafından yapılmıştır.

RNA-temelli bir filogenetik ağacın oluşturulmasındaki basamaklar Şekil 2.6•'da taslak olarak verilmiştir. Kısaca, iki veya daha fazla organizmanın ribozomal RNA gen kodları dizilenir ve diziler bilgisayarda baz baz sıraya dizilir ve kontrol edilir. İki veya daha fazla organizmanın ribozomal RNA gen dizisindeki farklılık ne kadar fazla ise evrimsel uzaklıkları da o kadar fazladır. Daha sonra, bu uzaklıklar filogenetik ağaç formunda ifade edilir (Şekil 2.6).

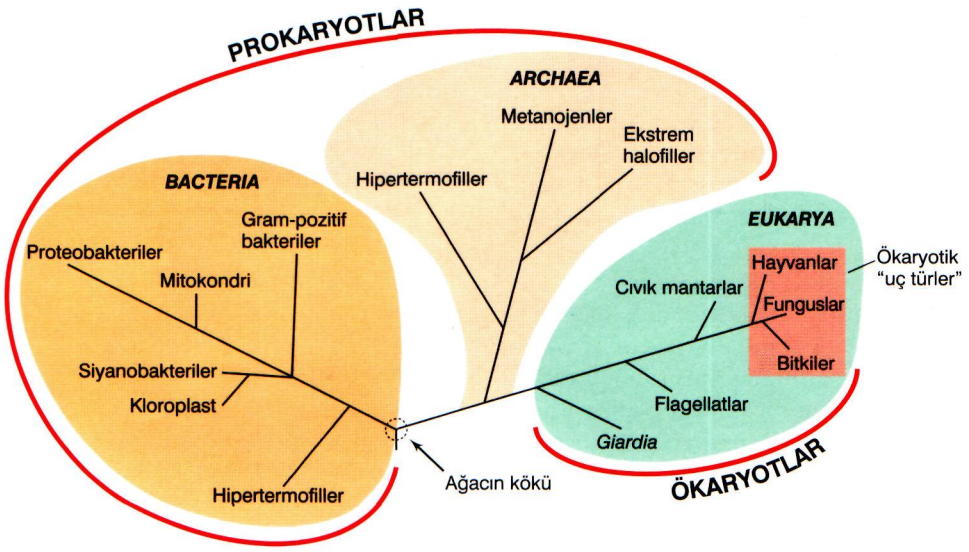
Yaşamın Üç Domaini

Karşılaştırmalı ribozomal RNA dizilemesinden, filogenetik açıdan farklı üç hücre soy hattı tanımlanmıştır. Bu soy hatlarından ikisi yalnızca prokaryot hücreleri içerirken, üçüncüsü ökaryotlardan oluşmaktadır. Domainler denilen soy hatları ***Bacteria***, ***Archaea*** ve ***Eukarya*** (Ökaryotlar) dır (Şekil 2.7•). Domainlerin ortak atasal bir organizmadan veya Dünyadaki yaşamın başlangıcında organizma topluluklarından ayrılarak oluştuğu düşünülmektedir (Kısım 11.7).

Bütün prokaryotların filogenetik olarak yakın ilişkili olmadığı açıkça gösterilmesine rağmen yaşam ağacı diğer önemli bir evrimsel gerçeği gös-



• **Şekil 2.6 Ribozomal RNA (rRNA) gen dizilemesi ve filogeni.** (a) Saf kültür veya çevre örneklerinden elde edilen hücreler parçalanır; (b) rRNA'yı kodlayan gen izole edilir ve polimeraz zincir reaksiyonu adı verilen bir teknikle pek çok benzer kopyası yapılır; Kısım 7.9. (c) Gen dizilenir (Kısım 10.13), ve (d) elde edilen diziler bilgisayarla sıralanır. Algoritma, ikili karşılaştırmaları yapar ve analiz edilen organizmaların arasındaki rRNA dizi farklılıklarını gösteren bir ağaç oluşturur. Gösterilen örnekte, dizi farklılıkları şu şekildedir: organizma 1'e karşı organizma 2, üç değişiklik; 1'e karşı 3, iki değişiklik; 2'ye karşı 3, dört değişiklik. Böylece, organizma 1 ve 3, 2 ve 3'den veya 1 ve 2'den daha yakın ilişkilidir. Eğer çevre örneği kullanılırsa, kopyaları yapılmadan ve dizi analizi uygulanmadan daha önce, örnekteki farklı mikroorganizmalardan izole edilen rRNA genleri ayrılmalıdır (klonlanmalıdır). Bu metotları daha fazla tartışmak için Kısım 11.5 ve 18.5'e bakınız.



● **Şekil 2.7 Karşılaştırmalı rRNA gen dizilemesiyle tanımlanmış filogenetik yaşam ağacı.** Ağaç, organizmaların üç domainini içermektedir: prokaryotik hücreler olan *Bacteria* ve *Archaea* ve *Eukarya* (ökaryotlar). Her domainde yalnızca birkaç organizma grubu gösterilmiştir. Her domain için Şekil 2.9, 2.18 ve 2.22'deki daha detaylı ağaçlara ve Bölüm 11-14'deki filogenetik ağaçlara bakınız. Hipertermofiller, en iyi 80°C ve üzerindeki sıcaklıklarda üreyen prokaryotlardır. Kırmızı gölgelenmiş gruplar makroorganizmalardır. Yaşam ağacındaki bütün diğer organizmalar mikroorganizmalardır.

terir: *Archaea*, ökaryotlarla *Bacteria* türlerine olduklarından daha yakın ilişkilidir (Şekil 2.7). Böylece, atasal kökenden evrimsel çeşitlenme, başlangıçta iki yöne gitmiştir: *Bacteria* ve ikinci bir ana dal. İkinci dal sonuç olarak *Archaea* ve *Eukarya*'yı oluşturmak üzere ayrılmıştır.

Eukarya

Tüm yüksek hayvan ve bitki hücrelerinin ökaryotik olmasından, ökaryotik mikroorganizmaların çok hücreli organizmaların kökeni olduğu anlaşılmaktadır. Yaşam ağacı bunu açıkça desteklemektedir. Beklendiği gibi, mikrobiyal ökaryotlar ökaryotik soy hattında erken dallanmışlarken, bitki ve hayvanlar uç noktaya yakın dallanmışlardır (Şekil 2.7). Bununla birlikte, diğer birkaç kanıtın yanı sıra, moleküler dizileme ökaryotik hücrelerin her iki domainin hücrelerine ait genler içerdiğini göstermiştir. Nükleusda bulunan kromozomlardaki genomlara ek olarak, ökaryot mitokondri ve kloroplastları da kendi genom (*Bacteria*'da olduğu gibi DNA halkasal olarak düzenlenmiştir) ve ribozomlarını bulundurur. Ribozomal RNA dizileme teknolojisi kullanılarak (Şekil 2.6), bu organellerin, *Bacteria*'nın özgül soy hatlarının yüksek oranda türemiş ataları olduğu gösterilmiştir (Şekil 2.7). Böylece, mitokondri ve kloroplastlar bir zamanlar serbest yaşayan hücrelerken, çok uzun zaman önce korunma veya diğer nedenlerden dolayı *Eukarya* hücrelerinde kararlı bir yerleşim oluşturmuşlardır. Bu kararlı düzenlemenin geliştiği proses *endosimbiyoz* olarak bilinir ve daha sonraki bölümlerde bu konu tartışılacaktır (Kısım 11.3 ve 14.4).

Moleküler Dizilemenin Mikrobiyolojiye Katkıları

Moleküler filogeniler bütün hücreler arasında evrimsel ilişkileri ortaya çıkarmıştır. Ancak, aynı derecede önemli olarak bu teknoloji, prokaryotlar için kuruluşundan beri mikrobiyoloji biliminin sahip olmadığı evrimsel bir çerçeve oluşturmuştur. Buna ek olarak, RNA-temelli filogeniler mikrobiyolojinin pek çok alt disiplinini etkileyen yeni araçlar oluşturmuşlardır. Bunlara, özellikle mikrobiyal sınıflandırma, mikrobiyal ekoloji ve klinik tanılar dahildir. Bu alanlarda, moleküler filogeni bir bakteri türünü kavramımızı şekillendirmede yardımcı olmuş ve mikrobiyal ekologlar ve klinik mikrobiyologların üretime ihtiyaç duymadan organizmaları tanımlamalarına izin vermiştir. Bu gelişmeleri sonraki bölümlerde ele alacağız (Bölüm 11, 18 ve 24).

2.3 Kavramların Gözden Geçirilmesi

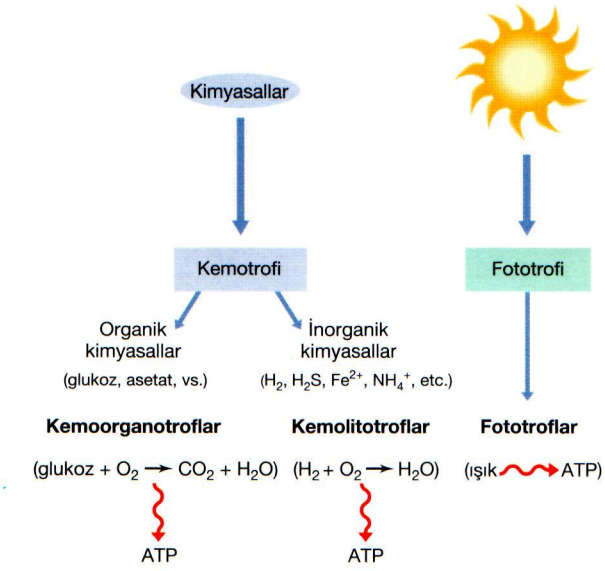
Karşılaştırılmalı ribozomal dizileme yaşamın üç domainini tanımlamıştır: *Bacteria*, *Archaea* ve *Eukarya*. Moleküler dizileme ayrıca, *Eukarya*'nın önemli organellerinin *Bacteria* domaininde evrimsel kökleri olduğunu göstermiş ve mikrobiyal ekoloji ve klinik mikrobiyoloji için yeni araçlar sağlamıştır.

- *Bacteria* ve *Archaea* nasıl ayırt edilebilir? Hangi açılardan benzerdirler?
- Endosimbiyoz teorisini hangi moleküler delil desteklemektedir?

II MİKROBİYAL ÇEŞİTLİLİK

Evrim, dünyadaki tüm yaşam formlarını şekillendirmektedir. Günümüzde, mikrobiyal hücrelerde gördüğümüz çeşitlilik 4 milyar yıllık evrimsel değişimin sonucudur. Mikrobiyal değişiklik pek çok açıdan görülebilir. Örneğin, hücre boyutu ve **hücre morfolojisinde** (şekil), metabolik stratejilerde (fizyoloji), hareketlilikte, hücre bölünme mekanizmalarında, patojenitede, gelişim biyolojisinde, ektrem çevresel şartlara uyumda ve hücre biyolojisinin pek çok diğer durumunda varyasyonlar oluşur. Gerçekten, çok büyük bir mikrobiyal çeşitlilik mevcuttur. Her yıl yeni araştırmalar, pek çoğunu bu kitapta ele alacağımız, mikrobiyal yaratıcılığın daha olağanüstü örneklerini ortaya koymaktadır.

Bundan sonraki kısımlarda mikrobiyal çeşitliliğin resmini yapacağız. Mikrobiyal çeşitlilik konusunu Bölüm 12-15'de daha detaylı olarak tekrar ele alacağız. Bu bölümde, kısa bir *metabolik* çeşitlilik değerlendirmesiyle mikrobiyal çeşitlilik tartışmamıza giriş yapacağız. İkisi sıkı bağlantılıdır. Mikroorganizmalar, fizik ve kimyanın kanunları ile uyumlu bir "yaşam oluşturmak" için her yolu kullanmaktadır. Bu büyük metabolik kapasite, mikrobiyal yerleşim için yeni habitatları uygun kılmıştır ve bu da evrimsel çeşitliliğin oluşmasına yardımcı olmuştur. Bölüm 5, 6 ve 17'de metabolik çeşitlilik daha detaylı olarak ele alınacaktır.



● **Şekil 2.8 Enerji eldesinde metabolik seçenekler.** Burada, çeşitli kemotrofik organizmalar tarafından kullanılan organik ve inorganik kimyasallardan sadece birkaçı verilmiştir. Kemotrofik organizmalarda ATP'yi, organik veya inorganik kimyasalların oksidasyonu sağlarken, güneş enerjisinin kimyasal enerjiye (yine ATP formunda) çevrimi fototrofik organizmalarda gerçekleşir.

2.4 Mikroorganizmaların Fizyolojik Çeşitliliği

Bütün hücreler enerjiye ve onu elde edecek araçlara ihtiyaç duyar. Ayrıca, bütün hücreler replikasyonu yapmak ve çevrelerindeki değişikliklere adapte olmak için genetik mekanizmalara ihtiyaç duyarlar. Bu işlemler, yüksek oranda enerjiye bağımlıdır ve bu nedenle de enerji kaynaklarının tüm hücreler için temel önemi vardır. Enerji doğada üç yolla elde edilebilir. Şekil 2.8●'de seçenekler özetlenmiştir: *organik* kimyasallar, *inorganik* kimyasallar ve *ışık*.

Kemoorganotroflar

Dünyada bulunan binlerce farklı kimyasalın pek çoğu, bir veya diğer mikroorganizma tarafından enerji elde etmek için kullanılabilir. Bütün doğal ve pek çok sentetik organik bileşikler bile bir veya daha fazla mikroorganizma tarafından parçalanabilir. Bileşiği *oksitleyerek* enerji elde edilir ve enerjice zengin bileşik, **adenozin trifosfat (ATP)** olarak hücrede muhafaza edilir (Şekil 2.8). Bazı mikroorganizmalar, yalnızca oksijen varlığında bir bileşikten enerji elde edebilir ve bu organizmalara **aeroblar** denir. Diğerleri, enerjiyi yalnızca oksijen yokluğunda elde edebilir **(anaeroblar)**. Diğerleri de, organik bileşikleri oksijen varlığında veya yokluğunda yıkabilir. Organik bileşiklerden enerjilerini elde eden organizmalara **kemoorganotroflar** denir (Şekil 2.8). Kültüre alınmış pek çok mikroorganizma kemoorganotrofdur.

Kemolitotroflar

Bazı prokaryotlar inorganik bileşiklerdeki enerjiyi kullanabilir. Bu, *kemolitotrofi* adlı bir metabolizma şeklidir (Winogradsky tarafından keşfedilmiştir, Kısım 1.7) ve **kemolitotroflar** adı verilen mikroorganizmalarca gerçekleştirilir (Şekil 2.8). Bu şekilde enerji sağlayan bir metabolizma yalnızca prokaryotlarda bulunur ve *Bacteria* ve *Archaea* arasında yaygındır. Kullanılan farklı inorganik bileşik spektrumu oldukça fazla olmasına rağmen, kural olarak belirli bir prokaryot inorganik bileşiklerin birini veya yakın bir grubunu kullanım açısından özelleşmiştir.

İnorganik bileşiklerden enerji elde etme kapasitesinin avantajlı bir durum olabileceği açıktır: Kemoorganotroflarla rekabet söz konusu değildir. Buna ek olarak, oksitlenen birçok inorganik bileşik, örneğin H_2 (Şekil 2.8) ve H_2S, aslında kemoorganotrofların *atık ürünleridir*. Bu şekilde, kemolitotroflar pek çok organizmanın kullanamadığı kaynakların kullanımında stratejiler geliştirmişlerdir.

Fototroflar

Fototrofik mikroorganizmalar, ışığı enerji kaynağı olarak kullanmalarına izin veren pigmentlere sahiptir ve bu nedenle, hücreleri renklidir (bakınız Şekil 2.10*a*). Kemotrofik organizmalardan farklı olarak, **fototroflar** enerji kaynağı olarak kimyasal-

lara ihtiyaç duymazlar; ATP güneş enerjisinden üretilir. Bu şüphesiz, kemotroflarla enerji yönünden rekabet problemi olmadığından ve geniş çeşitlilikte mikrobiyal habitatda ışık mevcut olduğundan önemli bir avantajdır.

Prokaryotlarda iki önemli fototrofi şekli bilinmektedir. Oksijenik fotosentez denen bir tipinde, O_2 oluşur. *Oksijenik fotosentez* siyanobakterilere ve onların filogenetik akrabalarına özgüdür. Diğer tip olan *anoksijenik fotosentez* ise mor ve yeşil bakterilerde gerçekleşir ve O_2 oluşmaz. Her iki fototrof grubu da ATP üretmek için ışığı kullanır ve ATP sentez mekanizmalarındaki benzerlikler oldukça dikkat çekicidir. Gerçekten de, oksijenik fotosentezin evrimsel kökleri, çok daha basit olan anoksijenik fotosenteze kadar uzanır. Fotosentezi daha detaylı olarak Bölüm 17'de değerlendireceğiz.

Heterotroflar ve Ototroflar

Bütün hücreler temel besin olarak *karbon*a ihtiyaç duyar. Mikrobiyal hücreler, karbon kaynağı olarak bir veya daha fazla organik bileşiğe ihtiyaç duyan **heterotroflar** veya karbon kaynakları CO_2 olan **ototroflar**dır. Kemoorganotroflar da heterotrofdur. Aksine, pek çok kemolitotrof ve esasen bütün fototroflar ototrofdur. CO_2'den kendi yararları ve kemoorganotroflar için organik madde sentezledikleri için, ototroflara bazen *primer üreticiler* denmektedir. Kemoorganotroflar ya direkt olarak primer üreticilerle veya onların oluşturdukları ürünlerle beslenirler. Dünyadaki bütün organik maddeler özellikle fototrofik organizmalar olmak üzere primer üreticiler tarafından sentezlenmektedir.

Habitatlar ve Ekstrem Çevreler

Mikroorganizmalar yaşamı destekleyecek her yerde bulunurlar. Bu ortamlara, aşina olduğumuz toprak, su, hayvanlar ve bitkiler gibi yaygın habitatlar ve insanlar tarafından yapılmış hemen hemen bütün yapıların içi veya yüzeyi dahildir. Gerçekten, doğal bir örneğin steril olması (yaşam formlarının bulunmaması) çok nadir bir olaydır.

Bazı mikrobiyal çevreler, bize göre yaşam için çok ekstrem bulduğumuz çevrelerdir. Bu çevreler mikroorganizmalara özel sorunlar yaşatıyor olsalar da, ekstrem çevreler mikrobiyal yaşamda yaygındır. Yaşamın fizyokimyasal sınırlarını tanımlayan, çoğunlukla prokaryotlardan oluşan dikkat çekici bir grup olan ve ekstrem çevrelerde yaşayan organizmalar **ekstremofiller** olarak adlandırılır.

Ekstremofilik prokaryotlar kaynayan sıcak su kaplıcalarında, buz kaplı göllerin içinde veya üzerinde, buzullarda veya kutup denizlerinde, aşırı tuzlu sularda, pH'sı 0 dan az veya 12 kadar olan toprak ve sular gibi sert çevrelerde bol bulunurlar. İlginç biçimde, bu mikroorganizmalar yalnızca bu çevreleri *tolere etmek*le kalmazlar, aynı zamanda üremek için çevresel ekstremlere *ihtiyaç* duyarlar. Bu nedenle onlara ekstremofiller ("fil" eki "sevmek" anlamındadır) denilmektedir. Tablo 2.1'de, ekstremofilik prokaryotlar için güncel "kayıtlı örnekler" özetlenmiş ve bulundukları habitat tiplerini listelenmiştir. Bu türlerin pek çoğunu daha sonraki bölümlerde tekrar göreceğiz (Bölüm 6, 12 ve 13).

2.4 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Tüm hücreler karbon ve enerji kaynaklarına ihtiyaç duyar. Kemoorganotrof, kemolitotrof ve fototrof terimleri enerji kaynakları olarak sırasıyla organik kimyasalları, inorganik kimyasalları veya ışığı kullanan hücreleri belirtir. Ototrofik organizmalar karbon kaynağı olarak CO_2'i kullanırken, heterotroflar organik karbonları kullanırlar. Ekstremofiller yüksek organizmaların üreyemeyeceği çevresel koşullarda başarılı bir şekilde ürerler.

Tablo 2.1 Ekstermofillerin sınıfları ve örnekleri[a]

Ekstrem	Tanımlayıcı terim	Cins/tür	Domain	Habitat	Minimum	Optimum	Maksimum
Sıcaklık							
Yüksek	Hipertermofil	*Pyrolobus fumarii*	*Archaea*	Sıcak, deniz tabanındaki hidrotermal açıklıklar	90°C	**106°C**	113°C[b]
Düşük	Psikrofil	*Polaromonas vacuolata*	*Bacteria*	Deniz buzu	0°C	**4°C**	12°C
pH							
Düşük	Asidofil	*Picrophilus oshimae*	*Archaea*	Asidik sıcak su kaplıcaları	–0.6	**0.7**[c]	4
Yüksek	Alkalifil	*Natronabacterium gregoryi*	*Archaea*	Soda gölleri	8.5	**10**[d]	12
Basınç	Barofil	*Moritella yayanosii*[e]	*Bacteria*	Derin okyanus sedimentleri	500 atm	**700 atm**	>1000 atm
Tuz (NaCl)	Halofil	*Halobacterium salinarum*	*Archaea*	Tuz fabrikaları	%15	**%25**	%32 (doygunluk)

[a] Her katogoride listelenmiş olan organizma üremek için bellirli bir eksterm koşula ihtiyaç duyan güncel kayıtlı örnekleridir.
[b] 121°C'ye kadar üreyebilen yeni izole edilmiş bir *Archaea*.
[c] *P. oshimae* aynı zamanda 60°C'de optimal üreyen bir termofildir.
[d] *N. gregoryi* aynı zamanda %20 NaCl'de optimal üreyen ekstrem halofildir.
[e] *Moritella yayanosii* yaklaşık 4°C'de optimal üreyen bir psikrofildir.

- Mikroskopla inceleyerek fototrofik bir mikroorganizmayı kemotrofik olandan nasıl ayırabilirsiniz?
- Ekstremofiller nedir?

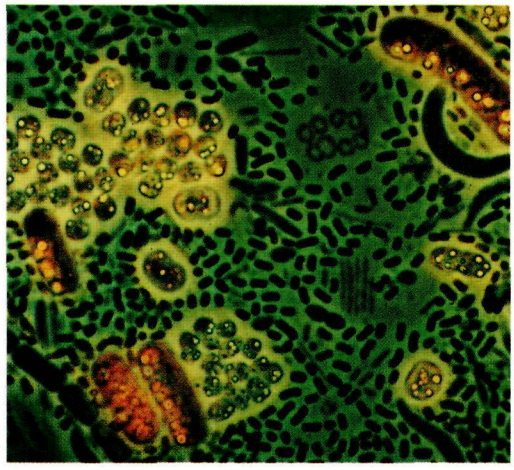
2.5 Prokaryotik Çeşitlilik

Daha önce gördüğümüz gibi, prokaryotlar *Archaea* ve *Bacteria* olmak üzere filogenetik olarak farklı iki domainde toplanırlar (Şekil 2.7). Bu kısımda filogenetik ağacı keşfedecek ve burada bulunan bazı önemli organizmaları kısaca değerlendireceğiz. Mikrobiyolojiye yeni başlayan öğrencilerin aşina olduğu prokaryotların çoğu *Bacteria* domaininde bulunduğundan dolayı konuya buradan başlayacağız.

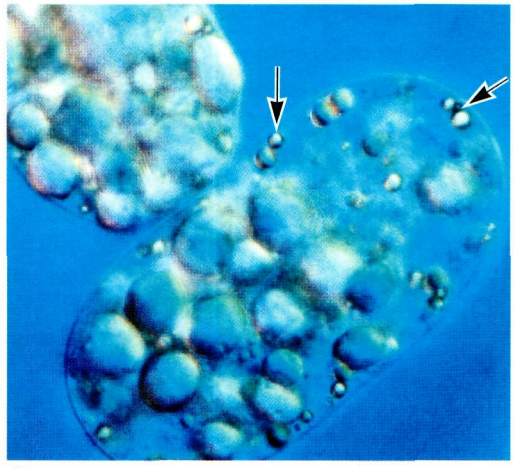
Bacteria

Bacteria domaini muazzam çeşitlilikte prokaryot içermektedir. Binlerce patojenik olmayan türün yanı sıra, bilinen tüm hastalık yapan (patojenik) prokaryotlar da *Bacteria*dır. Ayrıca, bu domainde büyük çeşitlilikte morfoloji ve fizyolojiler mevcuttur. **Proteobakteriler** *Bacteria*'nın en büyük bölümüdür (*şube* olarak isimlendirilir) (Şekil 2.9•). Proteobakteriler içerisinde mikrobiyal fizyolojinin, biyokimyanın ve moleküler biyolojinin model organizması olan *Escherichia coli* gibi pek çok kemoorganotrofik bakteri bulunur. Bazı fototrofik (Şekil 2.10*a*•) bakteriler ve kemolitotrofik (Şekil 2.10*b*) türler, aynı zamanda Proteobakteridir. Pek çok kemolitotrof, hidrojen sülfürü (H_2S, çürümüş yumurta kokusu) kullanarak hücre içi veya dışında depolanan elemental kükürt üretir (Şekil 2.10*b*). Kükürt, H_2S'in oksidasyon ürünüdür ve sülfata (SO_4^{2-}) oksitlenebilir. CO_2 fiksasyonu (ototrofi) veya enerji üretimi gibi önemli metabolik fonksiyonları başlatmak için sülfür ve kükürt, okside edilir.

Diğer bazı yaygın toprak ve su prokaryotları ve bitki ve hayvan içerisinde veya üzerinde geçici olarak veya hastalık yapıcı olarak yaşayan türler Proteobakteri üyeleridirler. Bunlara, pek çoğu kompleks ve ayrıca toksik olan doğal ve sentetik bileşiği yıkabilen *Pseudomonas* türleri ve azot fikse

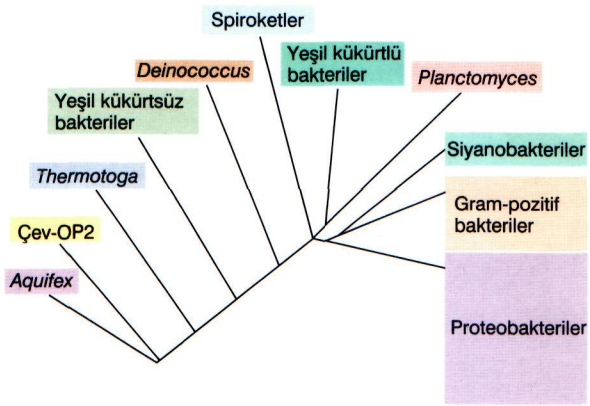


(a)



(b)

• **Şekil 2.10 Fototrofik ve kemolitotrofik Proteobakteriler.** (a) Fototrofik mor kükürtlü bakteri, *Chromatium* (doğal mikrobiyal topluluğun fotomikrografındaki büyük, kırmızı, çubuk şeklinde hücreler). Bir hücre yaklaşık 10 µm çapındadır. (b) Büyük, kemolitootrofik kükürt oksitleyen bakteri, *Achromatium*. Bir hücre yaklaşık 20 µm çapındadır. Elemental kükürt kürecikleri hücreler içerisinde görülebilmektedir (oklar). Bu bakterilerin her ikisi de sülfat indirgeyen bakteriler tarafından üretilen hidrojen sülfiti (H_2S) oksitlerler. Sülfat indirgeyen bakteriler, organik bileşikleri ve H_2'yi oksitlerken aynı zamanda sülfatı (SO_4^{-2}) H_2S'e indirger ve bu şekilde kükürt döngüsünü tamamlayan kemoorganotroflardır (Kısım 19.13).



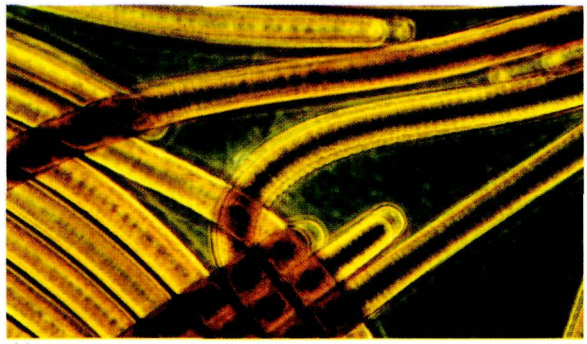
• **Şekil 2.9 *Bacteria* hattının detaylı filogenetik ağacı.** Bakterilerin bilinen tüm grupları bu ağaç üzerinde gösterilmemiştir. Renkli kutuların bağıl büyüklükleri, her gruptaki bilinen cins ve tür sayısının göstergesidir. Proteobakteriler bilinen en büyük *Bacteria* grubudur. Ağaç üzerinde "Çev" olarak belirtilmiş (çevresel için) soy hattı, kültürü yapılmış organizmayı belirtmek yerine, doğal örnekteki bir organizmadan izole edilmiş olan rRNA genlerinin dizisidir (metne bakınız). Bu örnekte, Çev-OP2'nin en yakın bilinen akrabası *Aquifex* olabilir. Gösterilmemiş olmasına rağmen, ağacın her yerinde bu şekilde birçok bilinen Çev'ler başka mevcuttur.

eden bir bakteri olan *Azotobacter* dahildir. *Salmonella*, *Rickettsia*, *Neisseria* ve pek çok diğer bakteri dahil olmak üzere, bazı anahtar patojenler de Proteobakteridir.

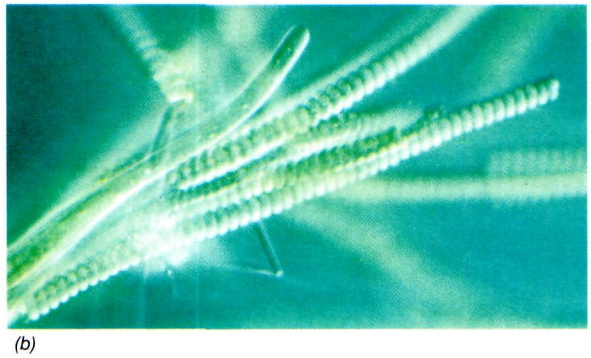
Bazı bakteriler, hücreleri *gram-pozitif* veya *gram-negatif* olarak boyayan bir teknik olan *Gram-boyama* yöntemi kullanılarak ayrılabilir (bakterilerin boyanma özellikleri Bölüm 4'de tartışılacaktır). *Bacteria*'nın **Gram-pozitif soy hattı,** filogeni ve hücre duvar yapılarıyla bir araya getirilmiş çeşitli türleri içerir. Burada, endospor oluşturan *Bacillus* (Ferdinand Cohn tarafından keşfedilmiş, Kısım 1.5) (Şekil 2.11*a*) ve *Clostridium*'u ve antibiyotik üreten *Streptomyces*'ler gibi akraba spor oluşturan prokaryotları buluruz. Buraya ayrıca, *Streptococcus* (Şekil 2.11*b*) ve *Lactobacillus* gibi organizmaları bulunduran, çürüyen bitki materyali ve süt ürünlerinde yaygın olarak bulunan laktik asit bakterileri dahildir. Diğer ilginç gram-pozitifler mycoplasma'lardır. Bu mikroorganizmaların hücre duvarı yoktur, çok küçük genomları vardır ve genelde patojeniktirler. *Mycoplasma*, tıbbi açıdan önemli bu grubun önemli bir cinsidir (Kısım 12.21 ve Şekil 12.62).

Siyanobakteriler (Şekil 2.12), gram-pozitif bakterilerin (Şekil 2.9) filogenetik akrabalarıdır ve oksijenik fototroflardır. Siyanobakteriler, Dünyada evrimleşen ilk oksijenik fototroflar olduklarından, yaşamın evrimleşmesinde kritik bir role sahiptirler (Şekil 1.1*b*). İlk başta oksijensiz olan Dünyada O_2 üretimi, oksijen kullanarak soluyabilen prokaryotların evrimleşmesine yol açtı. Bitkiler ve hayvanlar gibi "yüksek organizmaların" gelişimi, Dünyada oksijence daha zengin bir çevrenin oluşumundan sonra milyarlarca yıl aldı.

Bazı *Bacteria* soy hatları mükemmel morfolojide türler içermektedir. Bunlara organizmanın katı substrata tutunmasını sağlayan uzantıyla hücrelerle karakterize olmuş sucul **Planctomyces** grubu (Şekil 2.13) ve sarmal şekilli **Spiroketler** (Şekil 2.14) dahildir. Frengi ve Lyme hastalığı (Kısım



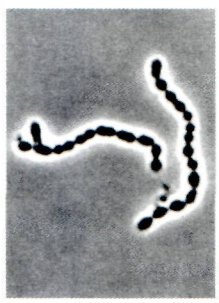
(a)



(b)

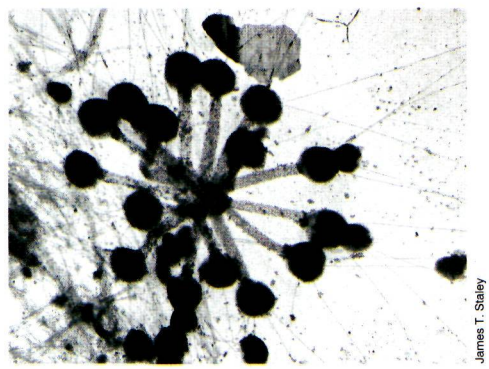
● **Şekil 2.12 Filamentli siyanobakteriler.** (a) *Oscillatoria*, (b) *Spirulina*. Çok uzun zaman önce, siyanobakteriler şu anda Dünya'da bulunan oksijeni ürettiler. Tek hücreli, kolonial ve heterosistikler dahil olmak üzere siyanobakterilerin pek çok diğer morfolojik formları bilinmektedir. Sonuncusu, azot fiksasyonu yapan *heterosist* adlı özel yapılar içerir (Kısım 12.25 ve 17.28).

(a)

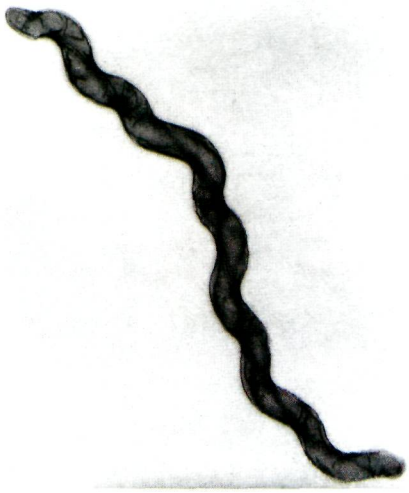


(b)

● **Şekil 2.11 Gram-pozitif bakteriler.** (a) Endospor oluşturan çubuk şeklinde bir bakteri olan *Bacillus*, zincir şeklinde hücreler olarak görünüyor. Hücreler içerisindeki endosporlara (parlak refraktil yapılar) dikkat ediniz. Endosporlar ısıya, kimyasallara ve radyasyona son derece dirençlidirler. (b) *Streptococcus*, zincir şeklinde olan küresel hücrelerdir. Streptokoklar, süt ürünlerinde yaygındır ve bazıları önemli patojenlerdir.



● **Şekil 2.13 Morfolojik yönden ilginç, uzantılı bakteri *Planctomyces*.** Uzantılarıyla rozet oluşturacak şekilde bir araya gelmiş hücreler görülmektedir.



● **Şekil 2.14** **Spiroketler.** *Spirochaeta zuelzerae* hücresi. Morfolojik olarak farklı olan bu prokaryotlar, filogenetik olarak da farklıdırlar (Şekil 2.19'a bakınız). Spiroketler doğada çok yaygındır ve bazıları frengi ve Lym hastalığı gibi hastalıklara sebep olur.

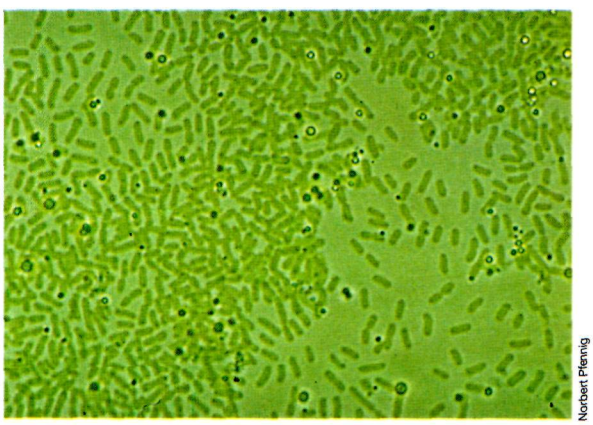
26.12 ve 27.4) başta olmak üzere, bazı hastalıklara spiroketler sebep olur.

Bacteria'nın iki diğer önemli soy hattı fototrofiktir: **yeşil kükürt bakterileri** ve **yeşil kükürtsüz bakteriler** (*Chloroflexus* grubu) (Şekil 2.15●). Her iki soy hattındaki türler de benzer fotosentetik pigmentleri içerir ve ototrof olarak çoğalabilirler. *Chloroflexus*, sıcak su kaplıcalarında ve sığ deniz koylarında bulunan filamentli bir prokaryottur ve genelde bir mikroorganizma topluluğu bulunduran tabakalaşmış mikrobiyal yığınlarda baskın organizmadır. Fotosentezin evriminde önemli bir bağlantı olduğuna inanıldığından dolayı da *Chloroflexus* önem taşır (Kısım 12.35 ve 17.7).

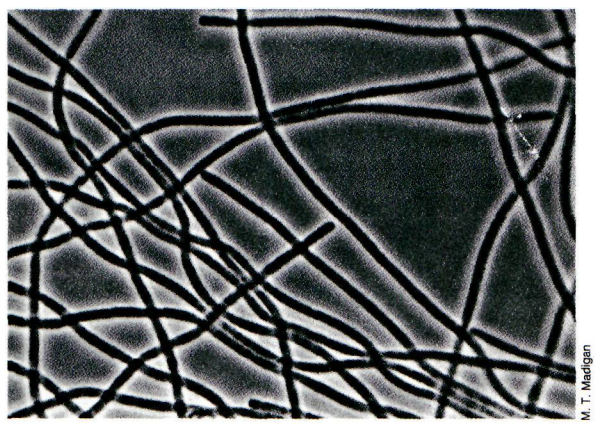
Bacteria'nın diğer önemli soy hatlarına **Chlamydia** (Klamidya) ve **Deinococcus** grupları dahildir (Şekil 2.9). Pek çok türü patojen olan *Chlamydia* cinsi, insanlara çeşitli solunum ve cinsel yolla bulaşan patojenleri bulundurur (Kısım 12.27 ve 26.13). Chlamydia, burada insan hücrelerinde olmak üzere, yüksek organizmaların hücreleri içerisinde yaşar anlamına gelen, *zorunlu hücre içi parazitleridir*. Bazı diğer patojenik prokaryotlar da (örneğin, tifus ve Rocky Mountain benekli humması gibi hastalıklara neden olan Proteobakterilerin bir üyesi olan *Rickettsia* türleri veya tüberküloza neden olan gram-pozitif bir bakteri) hücre içi patojendirler. Bu patojenlerin hücre içindeki yerleşimleri, konakçının bağışıklık yanıtı tarafından yok edilmelerini önleyebilecek bir olanak sağlamaktadır.

Deinococcus soy hattı, alışılmamış hücre duvarına sahip ve yüksek seviyede radyasyona karşı doğal bir direnç gösteren türleri bulundurur; *Deinococcus radiodurans* (Şekil 2.16●), bu grupta önemli bir türdür. Bu organizma, hayvanları öldürmek için yeterli olan dozdan çok daha fazla radyasyon dozlarında yaşayabilir ve radyasyon uygulamasından sonra etkilenmiş olan kromozomunu yeniden düzenleyebilir. Bu ilginç organizma hakkında Kısım 12.34'de daha fazlasını öğreneceğiz.

Son olarak, bakterilerin bazı soy hatları, köke çok yakın, filogenetik ağaçta çok erken dallanır (Şekil 2.9). Filogenetik olarak birbirlerinden farklı olmalarına rağmen, bu gruplar çok yüksek sıcaklıklarda üreme (hipertermofil) ortak özelliğini taşırlar. *Aquifex* (Şekil 2.17●) ve *Thermotoga* gibi organizmalar suyun kaynama noktasına yakın çevrelerde çoğalırlar. Düşünebileceğiniz gibi bu bölgeler sıcak su kaplıcalarıdır. Bu soy hatlarının erken dallanma özelliği (Şekil 2.7 ve 2.9). İlkel dünyanın

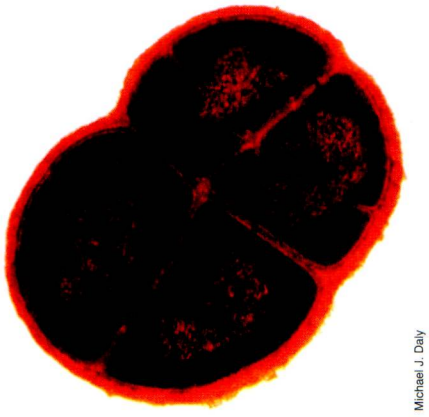


(a)



(b)

● **Şekil 2.15** **Fototrofik yeşil bakteriler.** (a) *Chlorobium* (yeşil kükürt bakterileri); tek bir hücre yaklaşık 0.8 μm enindedir. (b) *Chloroflexus* (yeşil kükürtsüz bakteriler); bir filament yaklaşık 1.3 μm enindedir. Bu organizmalar, pigmentler ve membran yapıları gibi birçok ortak özellik bulundurmalarına rağmen (Kısım 17.2), filogenetik olarak oldukça farklıdır (Şekil 2.9).



● **Şekil 2.16** **Radyasyona yüksek derecede dirençli bakteri, *Deinococcus radiodurans*.** Bu organizma, insanları öldürmeye yetecek düzeyin çok üzerindeki seviyelerde radyasyona dayanabilir. Bu şaşkınlık verici radyasyon direncinin detaylı tartışması için Kısım 12.34'e bakınız.

● **Şekil 2.17** ***Aquifex*.** Bu "erken dallanan" *Bacteria* türü (bakınız Şekil 2.9) optimal olarak 80°C 'nin üzerinde üreyen bir hipertermofildir.

bugün olduğundan çok daha sıcak olduğu fikri ile uyumludur (Kısım 11.1). Eğer yaşam ilk önce sıcak bir gezegende başlamışsa, ilkel organizmaların günümüze kadar ulaşan en yakın akrabalarının hipertermofiller olması mantıklıdır. İlginç olarak, hem *Bacteria* hem de *Archaea* filogenetik ağaçları tam bunu göstermektedir (Şekil 2.9 ve 2.18●). *Aquifex*, *Methanopyrus* ve *Pyrolobus* gibi organizmalar böylece, çok eski hücre soy hatlarının modern ataları sayılabilirler.

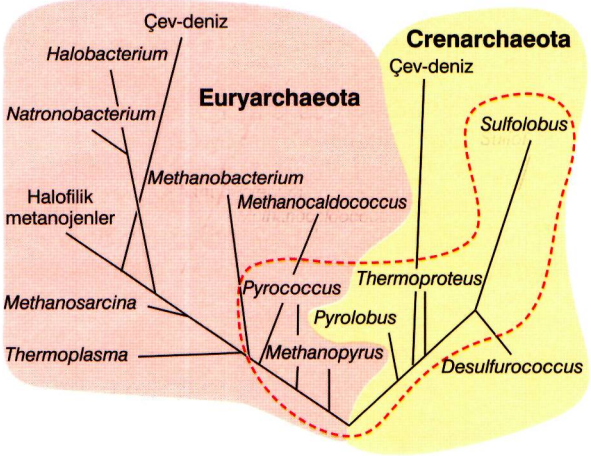
Archaea

Archaea (Şekil 2.18) domaininin incelenmesi *Euryarchaeota* ve *Crenarchaeota* olmak üzere iki alt divizyo bulunduğunu gösterir. Her alt divizyo *Archaea* ağacında büyük bir dallanma gösterir (Şekil 2.18). Bilinen bütün organizmalar arasında en yüksek sıcaklıklar ve ekstrem pH'larda üreyen türleri ile pek çok *Archaea* ekstremofildir (Tablo 2.1). Örneğin, *Pyrolobus* organizması (Şekiller 2.18 ve 2.19●) bilinen bütün prokaryotların en fazla ısı sevenidir (Tablo 2.1).

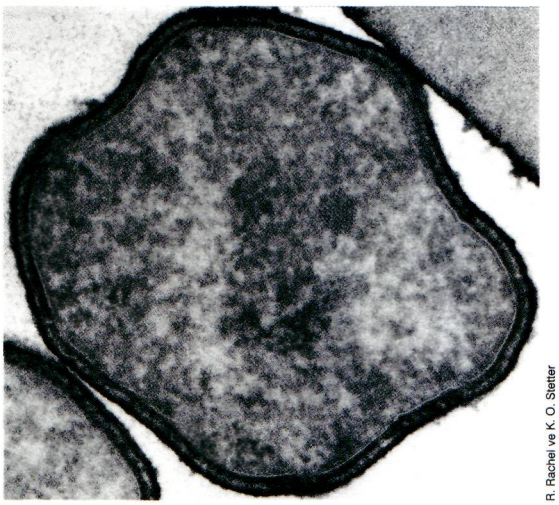
Tüm *Archaea* kemotrofik olmasına rağmen, *Halobacterium* (kısaca tartışılacak) ATP üretmek için ışığı kullanabilmektedir (fototrofik organizmalardan farklı bir yolla). Bazı *Archaea* üyeleri enerji metabolizmalarında organik bileşikleri kullanırlar. Çoğunlukla kullandıkları enerji kaynağı hidrojen gazı (H_2) olmak üzere diğer pek çoğu kemolitotroftur. Kemolitotrofi, özellikle hipertermofilik *Archaea* üyeleri arasında yaygındır.

Archaea ağacındaki *Euryarchaeota* dalı (Şekil 2.18), önemli ölçüde farklı fizyolojilere sahip olan üç grup organizmayı bulundurur. Bazı türler O_2'e ihtiyaç duyarken bazıları oksijenden ölür ve bazıları en yüksek ve en düşük pH ekstremlerinde ürerler (Tablo 2.1). *Methanobacterium* gibi *Methano-gen*ler, zorunlu anaeroblardır. Enerjice zengin bir madde olan metanın *üretimi* vasıtasıyla enerji elde etmeleri açısından metabolizmaları eşsizdir. Doğada organik maddelerin biyolojik yıkımını yaptıklarından, metanojenler ekolojik olarak önemli organizmalardır (Kısım 13.4, 17.17 ve 19.10) ve Dünyada bulunan doğal gazın tümü olmasa da pek çoğu, metabolizmaları sonucu oluşmaktadır.

Ekstrem halofiller, metanojenlerin akrabalarıdır (Şekil 2.18), ancak fizyolojik açıdan onlardan farklıdırlar. Oksijenden ölen metanojenlerin tersine, ekstrem halofiller oksijene *ihtiyaç duyar* ve metabolizmaları ve üremeleri için çok yüksek miktarlarda tuz (NaCl) gereksinimleri ile karakteristiktirler. Bu nedenle, bu organizmalara *halofiller* (tuz sevenler)

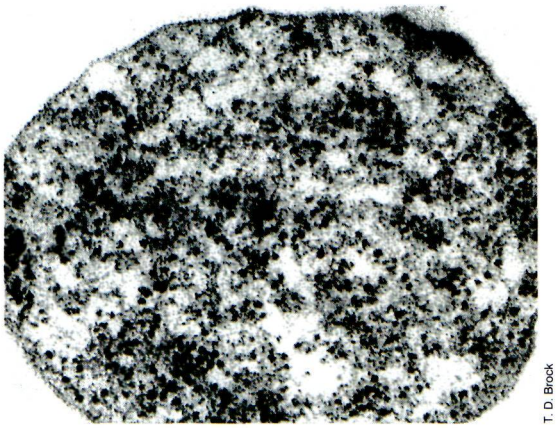


● **Şekil 2.18** ***Archaea*'nin detaylı filogenetik ağacı.** *Archaea*'in bilinen tüm grupları bu ağaç üzerinde gösterilmemiştir. *Archaea*'nin iki önemli grubu mevcuttur: Euryarchaeota ve Crenarchaeota. Kırmızı ile daire içerisine alınmış organizmalar çok yüksek sıcaklıkta üreyen hipertermofillerdir. Metanojenler ve aşırı halofiller ve asidofiller pembe olarak gösterilmiştir. Her önemli grubun, pek çoğu deniz türleri olan kendi Çev soy hattı (Şekil 2.9'un yazısına ve metne bakınız) mevcuttur. Her iki *Archaea* alt grubunda da yaklaşık aynı sayıda tür olmasına rağmen, kültürü yapılmış toplam *Archaea* sayısı *Bacteria*'den çok daha azdır.



R. Rachel ve K. O. Stetter

● **Şekil 2.19** **Pyrolobus.** Suyun kaynama noktasının üzerinde optimal üreyen bir hipertermofil *Archaea*.



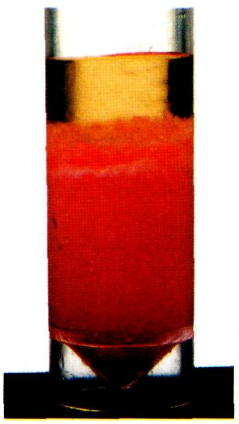
T. D. Brock

● **Şekil 2.21** **Aşırı asidofilik prokaryot.** Hücre duvarı olmayan *Archaea*, *Thermoplasma* burada gösterilmiştir ve onunla yakın akraba olan *Picrophilus* (bakınız Tablo 2.1) en iyi nisbeten yüksek sıcaklıkta ve aşırı düşük pH'da üretir. *Bacteria*'ya dahil olmasına rağmen, *Mycoplasma* cinsi de hücre duvarsız türler bulundurur. Hücre duvarsız prokaryotlar Kısım 12.21 ve 13.5'de tartışılmıştır.

denilir. Gerçekten, *Halobacterium* gibi organizmalar tuz kristalleri içinde veya üzerinde üreyebilecek kadar çok tuz sevmektedirler (Şekil 2.20●).

Daha önce bahsedildiği gibi (bakınız Kısım 2.4), pek çok prokaryot fototrofikdir ve ışıktan ATP üretebilir. *Halobacterium* türleri gerçek fototroflar gibi klorofil üretmemesine rağmen, ışığı absorblayabilen ve ATP sentezini tetikleyen bir tip ışığa duyarlı pigment içerir (Kısım 13.3). Ekstrem halofilik *Archaea* üyeleri tuz gölleri, tuz fabrikaları ve çok tuzlu olan diğer *çevrelerde* yaşarlar. *Natronobacterium* gibi bazı ekstrem halofiller yüksek seviyede tuz ve pH ile karakterize olmuş çevreler olan soda göllerinde bulunurlar. Bu tip organizmalar, bu nedenle, alkalifilikdir ve bilinen bütün organizmalar için en yüksek pH'da ürerler (Tablo 2.1).

Ele alacağımız son *Archaea* grubu *Thermoplasma* (Şekil 2.21●) gibi termoasidofillerdir. Bu prokaryotların hücre membranı olmasına rağmen, hücre duvarları yoktur (bu açıdan *Mycoplasma* ile benzerdir) ve nisbeten yüksek sıcaklıklarda ve aşırı düşük pH'larda en iyi şekilde ürerler. Bilinen bütün prokaryotların en *asidofilik* olanı *Picrophilus*, bu gruba dahildir.



William D. Grant

● **Şekil 2.20** **Ekstrem halofilik *Archaea*.** NaCl çökelme noktasındaki ve ekstrem halofil *Halobacterium* hücrelerini içeren bir şişe tuzlu su. Organizma ışığı emen ve ATP üretimine yol açan pigmentler içerir. *Halobacterium* hücreleri, tuz kristalleri içerisinde de üreyebilirler (Mikrobiyal ek bilgi, Bölüm 4, Bir endospor ne kadar uzun yaşayabilir?).

Doğal Mikrobiyal Toplulukların Filogenetik Analizleri

Archaea'nin tümü ekstremofil değildir. Pek çoğu göller, topraklar ve okyanuslarda bulunabilir. Şansızlık eseri *Archaea*'nın çoğunun laboratuvar kültüründe başarısız olunmuştur ve bu nedenle habitatlarındaki işlevleri ile ilgili olarak çok az şey bilmekteyiz. *Bacteria*'nın kültüre alınmamış üyeleri için de aynı şeyler söylenebilir. Eğer bu organizmalar kültüre alınmamışlarsa, onların orada bulunduğunu nasıl biliyoruz? Toprak gibi, doğal örneklerdeki hücrelerden *ribozomal RNA genlerini* izole etmek mümkün olduğu için, bunu bilmekteyiz. Eğer bir doğal örnek ribozomal RNA içeriyorsa, bu, ribozomal RNA'yı üreten organizmanın örnekte bulunmaması demektir. Böyle bir örneği ribozomal RNA genleri için işlemden geçirir, izole eder ve onları dizilersek, farklı organizmaların kültürlerinde yaptığımız gibi onları filogenetik ağaca yerleştirebiliriz (bakınız Şekil 2.9 ve 2.18).

Amerikalı bir mikrobiyolog olan Norman Pace'in ilk kez tasarladığı bu *moleküler mikrobiyal ekoloji* metotlarının kullanılmasıyla, prokaryotik çeşitliliğin kapsamının orijinal olarak düşünüldüğünden çok daha büyük olduğu açığa çıkmıştır. Herhangi bir mikrobiyal habitat örneklemesi, bu habitatda hiçbir zaman kültürü yapılmamış çok sayıda prokaryotu ortaya çıkarmıştır. Şimdi yapılması gereken, onları üretme amaçlı yaratıcı kültür

tekniklerini tasarlayabilmek için, bu kültürü yapılmamış prokaryotların biyolojilerini yeterince keşfetmeye çalışmaktır. Kültürü yapılmamış *Archaea* ve *Bacteria*'nın genomik analizi (çevresel genomik, Kısım 18.6), bu hususda yardımcı olacaktır. Bu nedenle, bu kültürü yapılmamış organizmalarda bulunan genlerin tümünün tanımlanması, onların metabolik kapasitesini gösterecektir. Bu organizmaların metabolik tasarımlarının bilinmesinin, kültürlerinin yapılmasında kullanılacak özgül izolasyon metotlarının hazırlanmasında yardımcı olması beklenir.

2.5 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Archaea ve *Bacteria* domainlerinde birkaç soy hattı vardır ve çok çeşitlilikte hücre morfolojisi ve fizyolojisi bulunmaktadır. Doğal örneklerdeki hücrelerden ribozomal RNA genlerinin elde edilmesi ve analizi doğada pek çok filogenetik açıdan farklı, ancak halen kültürü yapılmamış prokaryot bulunduğunu göstermektedir.

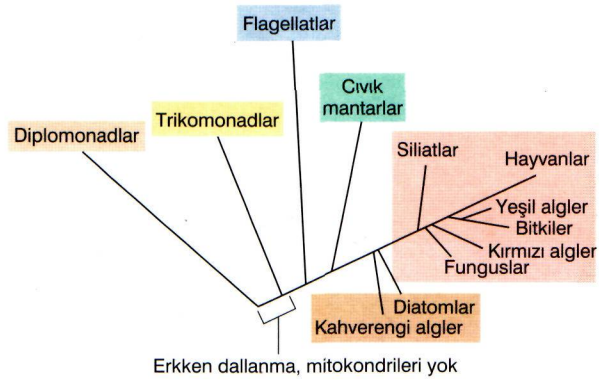
- Barsağınızda yaşayan hangi önemli bakteri türleri Proteobakteri üyesidir?
- Siyanobakterilerin, Dünyayı yüksek yaşam formlarının evrimselleşmesi için hazırladığı niçin söylenebilir?
- *Halobacterium* cinsinde doğal olmayan nedir?
- İzole etmeden ve laboratuvar kültüründe üretmeden bir doğal habitatta özel bir prokaryot soy hattının olduğunu nasıl anlarız?

2.6 Ökaryotik Mikroorganizmalar

Ökaryotik hücreler farklı hücre yapıları (Şekil 2.1) ve filogenetik geçmişleriyle (Şekil 2.7) ilişkilendirilmişlerdir. *Eukarya* domaininin incelenmesi (Şekil 2.22) yaşam ağacında en fazla evrimleşmiş ökaryotlar olan bitki ve hayvanlarla sonuçlanan uzun bir dalı göstermektedir. Ancak, ilginç biçimde ve ağaçtaki filogenetik yerleşimine uyumlu olarak bazı "erken-dallanan" *Eukarya*'lar mitokondri ve bazı diğer anahtar organelleri olmayan, yapısal olarak basit ökaryotlardır. Diplomonad *Giardia* (Şekil 2.22) gibi bu hücreler, endosimbiyoz yapmamış veya muhtemelen yapmış ancak daha sonra endosimbiyontunu kaybetmiş ilkel ökaryotik hücrelerin modern soyları olarak gözükmektedir (Kısım 2.3, 11.3 ve 14.4'e bakınız). Bu ilkel ökaryotların pek çoğu, insan ve diğer hayvanların parazitleridir ve serbest veya bağımsız olarak yaşayamazlar.

Ökaryotik Mikrobiyal Çeşitlilik

Prokaryotlarda olduğu gibi çeşit çeşit ökaryotik mikroorganizma bilinmektedir. Mikrobiyal ökaryotlar **Protista** veya kısaca *protistler* olarak bilinirler. Algler gibi (Şekil 2.23*a*●) bazı protistler fototrofiktir. Algler kloroplast adlı klorofilce zengin organeller bulundurur ve yalnızca birkaç mineral (örneğin, K, P, Mg, N, S), H_2O, CO_2 ve ışık olan

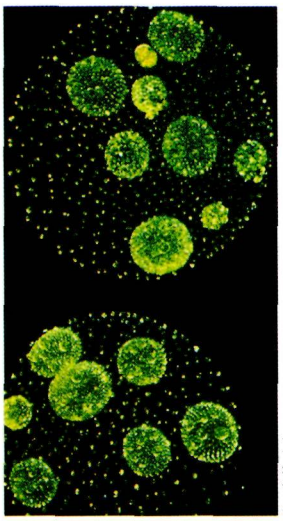


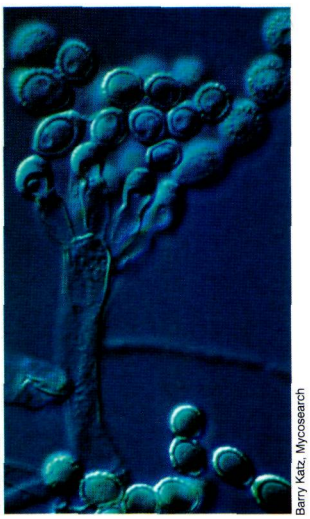
● **Şekil 2.22 *Ökarya*'nın detaylı filogenetik ağacı.** *Ökarya*'nın bilinen bütün soy hatları gösterilmemiştir. *Ökarya*'nın bazı erken-dallanan türlerinin nükleusdan başka organelleri bulunmamaktadır. "Yüksek organizmaların" (bitkiler ve hayvanlar) ağacın zirvesi yakınında dallandığına dikkate ediniz.

çevrelerde yaşabilirler. Algler hem toprak hem de sucul habitatlarda yaşar ve doğadaki ana primer üreticilerdir. Fungusların (Şekil 2.23*b*), fotosentetik pigmentleri yoktur ve tek hücreli (mayalar) veya filamentlidirler (küfler). Funguslar doğada önemli biyolojik yıkım ajanıdır ve toprakta ve diğer ekosistemlerde organik maddenin çoğunun yeniden döngüye sokulmasını sağlar.

Alg ve fungus hücrelerinin hücre duvarı varken protozoaların (Şekil 2.23*c*) yoktur. Pek çok protozoan hareketlidir ve değişik türler doğada sucul habitatlarda ve insan ve diğer hayvanlarda patojen olarak yaygındır. Farklı protozoalar *Eukarya* filogenetik yaşam ağacında yayılmıştır. Flagellatlar gibi bazıları, oldukça erken dallanan türler iken, *Paramecium*'un siliyatlı türleri (Şekil 2.23) gibi diğerleri filogenetik olarak en fazla türemiştir (Şekil 2.22). *Cıvık mantarlar*, hareketli olmaları ve hücre duvarlarının olmaması açısından protozoalara benzerler. Bununla birlikte, cıvık mantarlar protozoalardan filogenileri yanında hücrelerinin yaşam döngüsü geçirmesi açısından da farklıdırlar. Cıvık mantarların yaşam döngüsü sırasında hareketli hücreler, yeni hareketli hücreleri oluşturan sporların üretildiği *fruktifikasyon yapısı* adlı çok hücreli yapıyı oluşturmak üzere bir araya gelir (Kısım 14.11). Cıvık mantarlar, mikroskobik yapıları oluşturacak bu tip hücresel işbirliği gösteren bilinen el ilkel protistlerdir.

Likenler genelde kayalar, ağaçlar ve diğer yapılar üzerinde gelişen yaprak benzeri yapılardır (Şekil 2.24●). Likenler iki organizmanın karşılıklı yarar için birlikte yaşadığı bir durum olan mikrobiyal *mutualizm* örneğidir. Likenler bir fungus ve bir alg (ökaryot) veya bir siyanobakteri (bir prokaryot)'den oluşur. Fototrofik bileşen primer üreticiyken fungus fototrofa tutunmak için yüzey ve korunmayı sağlar. Böylece, liken tamamen farklı iki organizma arasında başarılı bir mutualistik işbirliği stratejisi geliştirmiş dinamik bir organizmadır.


(a)


(b)

(c)

Dennis Kunkel

Barry Katz, Mycosearch

Sydney Tamm

● **Şekil 2.23** **Mikrobiyal *Eukarya*.** (a) Algler; koloni şeklinde yeşil alg, *Volvox* (Kısım 14.13). Her küresel şekilli hücre, fototrofik ökaryotların fotosentetik organeli olan birkaç kloroplast içerir. (b) Funguslar; tipik bir küfün spor taşıyan yapıları. Her spor, yeni bir filamentli fungus oluşumunu sağlayabilir (Kısım 14.12). (c) Protozoa; silli protozoan *Paramecium* (Kısım 14.10). Hücrenin hareketini sağlayan siller bir kayığın kürekleri gibi görev yapar.

(a)

(b)

M. T. Madigan

M. T. Madigan

● **Şekil 2.24** **Likenler.** (a) Kaya üzerinde gelişen turuncu pigmentli bir liken ve (b) ölü ağaç kökü üzerinde üreyen sarı pigmentli bir liken, Yellowstone Ulusal Parkı, USA. Likenin rengi, liken yapısının pigmentli bileşeninden (alg) kaynaklanır. Klorofillerin yanı sıra, likenlerin alg bileşenleri sarı, turuncu, kahverengi, kırmızı, yeşil ve mor olabilen karetonoid pigmentler (Kısım 17.3) içerir.

Sonsöz

Buradaki mikrobiyal çeşitlilik yolculuğumuz, yalnızca konunun genel bir tanıtımını sağlamıştır. Konu bundan çok daha geniştir ve Bölüm 12-15'de devam edecektir. Bu bölümde virüslerin kasıtlı olarak kapsam dışı bırakıldığına da dikkat ediniz. Virüslerin hücre olmadığını ancak, çoğalmak için hücrelere ihtiyaç duyduklarını hatırlayınız (bakınız Kısım 2.1). Tüm yaşam domainlerindeki hücrelerin viral parazitleri mevcuttur ve viral çeşitlilikle sonraki bölümlerde ilgileneceğiz (Bölüm 9 ve 16).

Mikrobiyal çeşitliliğin daha detaylı ele alınmasına geçmeden önce, özellikle prokaryotik hücreler olmak üzere hücrelerin moleküler özelliklerini iyice bilmeliyiz. Bu süreçte, yaşam ağacının evrimsel açılımının doğrudan sonucu olarak organizmaların müthiş kimyasal çeşitliliğini öğreneceğiz. O zaman, mikrobiyal çeşitlilik konusunu tekrar ele almak ve buradaki kapsamımızı genişletmek için iyi hazırlanmış olacağız.

2.6 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Mikrobiyal ökaryotlar algler, protozoalar, funguslar ve cıvık mantarların dahil olduğu geniş bir gruptur. Bazı algler ve funguslar *likenler* adlı mutualistik işbirliği geliştirirler.

- Alglerin siyanobakterilerden farklı olduğu en az iki durumu yazınız.
- Alglerin protozoalardan farklı olduğu en az iki durumu yazınız.
- Bir likenin üyeleri birbirine nasıl yarar sağlar?

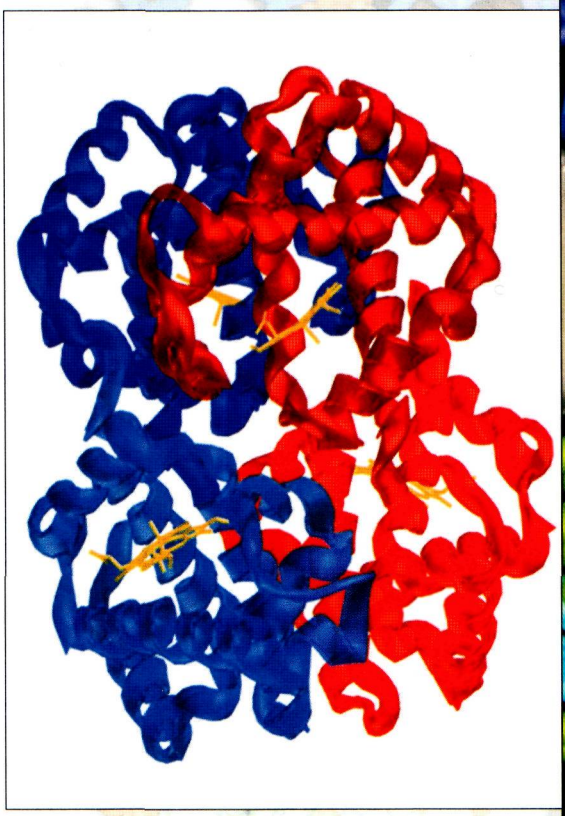
DEĞERLENDİRME SORULARI

1. Bir hücrenin sitoplazmik zara niçin ihtiyacı vardır (Kısım 2.1)?
2. Hangi yaşam domainlerinin prokaryotik hücre yapısı vardır? Prokaryotik hücre yapısı evrimsel ilişkiyi gösterebilir mi (Kısım 2.1)?
3. Virüsler hangi açılardan hücrelere benzer? Hangi açılardan hücrelerden farklıdırlar (Kısım 2.1)?
4. *Genom* kelimesinin anlamı nedir? Prokaryot genomunun düzenlenmesi hangi açıdan ökaryotlardan farklıdır? (Kısım 2.2)?
5. Hangi nedenlerden dolayı mitoz ve mayoz süreçleri ökaryotik hücrelerde gerçekleşmektedir (Kısım 2.2)?
6. *Escherichia coli* gibi bir organizmanın kaç geni vardır? Bu sizin herhangi bir hücrenizdeki gen sayısı ile nasıl karşılaştırılır (Kısım 2.2)?
7. Endosimbiyoz teorisi nedir (Kısım 2.3)?
8. Moleküler çalışmalar *Archaea* türlerinde, çeşitli ökaryotlardaki emsallerine *Bacteria* türlerindekinden çok daha sıkıca benzer olan pek çok makromolekül göstermiştir. Açıklayınız (Kısım 2.3)?
9. Kemoorganotrofların enerji metabolizması açısından *kemoototroflardan* ne farkı vardır? Her grubun üyeleri hangi karbon kaynaklarını kullanır? Bu nedenle, bunlar heterotrof mu yoksa ototrof mudur (Kısım 2.4)?
10. *Pyrolobus* organizmasında doğal olmayan nedir (Kısım 2.5)?
11. *Pyrolobus*, *Halobacterium* ve *Thermoplasma* organizmaları arasında hangi benzerlik ve farklılıklar vardır (Kısım 2.5)?
12. Şekil 2.18'i inceleyiniz. "Çev-sucul" soy hattının anlamı nedir (Kısım 2.5)?
13. *Giardia*'nın yapısal ve filogenetik açıdan insan hücrelerinden farkı nedir (Kısım 2.6)?

UYGULAMA SORULARI

1. Hücreden kromozomun alınması ölümcül olabilecekken, plazmit içeren prokaryotik hücreler plazmitlerini herhangi bir olumsuz etki oluşmadan sık sık "**kaybedebilir**" (yani, plazmitler kalıcı olarak uzaklaştırılabilir). Açıklayınız.
2. Makroorganizmaların evrimi hakkındaki bilgi birikiminin mikroorganizmalardan çok daha önce geldiği söylenmektedir. Örneğin, atların evrimsel soy hattının yeniden kurgulanmasının, herhangi bir prokaryot grubu için aynısını yapmaktan daha kolay bir iş olabileceğini neden düşünürsünüz?
3. Şekil 2.6'da gösterilen filogenetik ağacı inceleyiniz. Gösterilen dizi verilerini kullanarak, dallar aynı kalıp organizma 2 ve 3'ün ağaçtaki yerleri değişseydi ağacın niçin yanlış olacağını açıklayınız?
4. Mikrobiyologlar yüksek çeşitlilikte mikroorganizmanın kültürünü yapmışlardır, fakat organizmaları hiçbir zaman görmemiş olmalarına ya da laboratuvarda üretmemiş olmalarına rağmen daha da yüksek çeşitlilik olduğunu bilmektedirler. Açıklayınız.
5. Arkadaşınızı, ekstremofillerin yalnızca kendi habitatlarında "öylesine duran" organizmalar olmadığına inandırmak için bu bölümdeki hangi verileri kullanabilirsiniz?
6. Bu cümleyi savunuz: Eğer siyanobakteriler hiçbir zaman oluşmamış olsalardı, Dünyada yaşam zorunlu mikrobiyal olarak kalacaktı.

3 MAKROMOLEKÜLLER



I CANLI SİSTEMLERDEKİ KİMYASAL BAĞLAR VE SU 39

3.1 Kuvvetli ve Zayıf Kimyasal Bağlar 39

3.2 Makromoleküllere ve Canlılardaki Çözücü Olan Suya Genel Bakış 42

II BİLGİ TAŞIMAYAN MAKROMOLEKÜLLER 43

3.3 Polisakkaritler 43

3.4 Lipidler 45

III BİLGİ TAŞIYAN MAKROMOLEKÜLLER 46

3.5 Nükleik Asitler 46

3.6 Amino Asitler ve Peptid Bağı 48

3.7 Proteinler: Birincil ve İkincil Yapı 50

3.8 Proteinler: Yüksek Yapısal Düzen ve Denatürasyon 51

Anahtar rolü oynayan makromolekül sınıfı olan proteinlerin yapısı onların işlevlerini belirler.

BÖLÜMLE İLGİLİ SÖZLÜK

Birincil yapı polipeptid gibi bilgi taşıyan bir makromolekülün monomerik birimlerinin özgül dizisi
Denatürasyon bir proteinin katlanma özelliklerinin bozulması ve (genellikle) biyolojik aktivite kaybı ile sonuçlanan olay
Dördüncül yapı son şeklini almış bir protein molekülündeki polipeptidlerin sayısı ve tipi
Enantiyomer aynı molekülün birbirinin ayna görüntüsü olan formlarından her biri
Fosfodiester bağı bir polinükleotitdeki nükleotitleri birbirine bağlayan kovalent bağ tipi
Glikozidik bağ bir polisakkaritteki şeker birimlerini birbirine bağlayan kovalent bağ tipi
Hidrojen bağı bir hidrojen atomu ile daha elektronegatif ikinci bir atom (genellikle oksijen ya da azot) arasındaki zayıf kimyasal bağ
İkincil yapı bir polipeptid ya da polinükleotitin genellikle hidrojen bağları aracılığı ile kazandığı başlangıç katlanma biçimi
İzomerler aynı moleküler formüle sahip oldukları halde, yapısal olarak farklı iki molekül
Kovalent bağ iki atom arasında elektron paylaşılmasıyla kurulan kimyasal bağ
Lipid gliserol ve yağ asitleri ya da başka hidrofobik moleküllerin ester ya da eter bağlarıyla bağlanmasıyla ortaya çıkan yapı
Makromolekül kovalent olarak bağlanmış monomerik birimlerin oluşturduğu polimer
Molekül birbirlerine kimyasal olarak bağlanmış iki ya da daha fazla sayıdaki atom
Nükleik asit DNA ya da RNA
Nükleozit fosfat grubu taşımayan nükleotit
Nükleotit bir tane azotlu baz (adenin, guanin, sitozin,timin ya da urasil), bir molekül fosfat ve riboz (RNA'da) ya da deoksiriboz (DNA'da) şekeri içeren nükeik asit monomeri
Peptid bağı bir polipeptiddeki amino asitleri birbirine bağlayan kovalent bağ tipi
Polar hidrofilik özellikler taşıyan ve genellikle suda çözünür olan
Polar-olmayan hidrofobik (sudan kaçan) özellikler taşıyan ve suda kolayca çözünemeyen
Polimer monomer adı verilen tekrarlanan birimlerin polimerizasyonu ile oluşan kimyasal bileşik
Polinükleotit fosfodiester bağları ile birbirlerine bağlanmış nükleotit polimeri
Polipeptid peptid bağları ile birbirlerine bağlanmış amino asitlerin oluşturduğu polimer
Polisakkarit glikozidik bağlarla birbirlerine bağlanmış şeker birimlerinden oluşan polimer
Protein özgül biyolojik işleve sahip bir polipeptid ya da polipeptid grubu
Üçüncül yapı daha önce ikincil yapısını kazanmış olan bir polipetidin katlanarak kazandığı son biçim

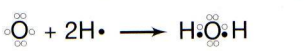
CANLI SİSTEMLERDEKİ KİMYASAL BAĞLAR VE SU

Bir hücrenin nasıl çalıştığını anlamak için, hücrede yer alan moleküllerin ve gerçekleşen kimyasal süreçlerin bilinmesi zorunludur. Moleküller ve özellikle de **makromoleküller** bu bölümün konusunu oluşturmaktadır. Okuyucuların, element kimyası ve özelikle de atomik bağlanmaların niteliği konusunda temel bilgiye sahip olduğu varsayılmaktadır. Bu bölüme temel kimyasal bağları ele alarak başlayacak, bu temeli genişletecek ve dört makromolekül sınıfı olan **polisakkaritler**, **lipidler**, **nükleik asitler** ve **proteinlerin** yapılarını ve işlevlerini tartışacağız.

3.1 Kuvvetli ve Zayıf Kimyasal Bağlar

Canlılarda bulunan temel kimyasal elementler hidrojen, oksijen, karbon, azot, fosfor ve kükürt'tür. Bu elementler canlılardaki molekülleri oluşturmak üzere çeşitli yollarla bağlanabilirler. **Molekül** birbirlerine kimyasal olarak bağlanmış iki ya da daha fazla atomdan oluşur. İki oksijen (O) *atomu*, bir *molekül* oksijen (O_2) oluşturmak üzere birleşebilir. Benzer şekilde, karbon (C), hidrojen (H) ve O atomları da bir heksoz şeker olan glukozu ($C_6H_{12}O_6$) oluşturmak üzere bir araya gelebilirler.

Canlılardaki kimyasal elementler kuvvetli kimyasal bağlar kurma yeteneğindedirler. Bu bağlar atomlar arasında elektronların paylaşılmasıyla kurulur ve **kovalent bağlar** olarak adlandırılır. Bir kovalent bağı açıklamak için, O ve H elementlerinin su molekülünü oluşturmasını inceleyelim:

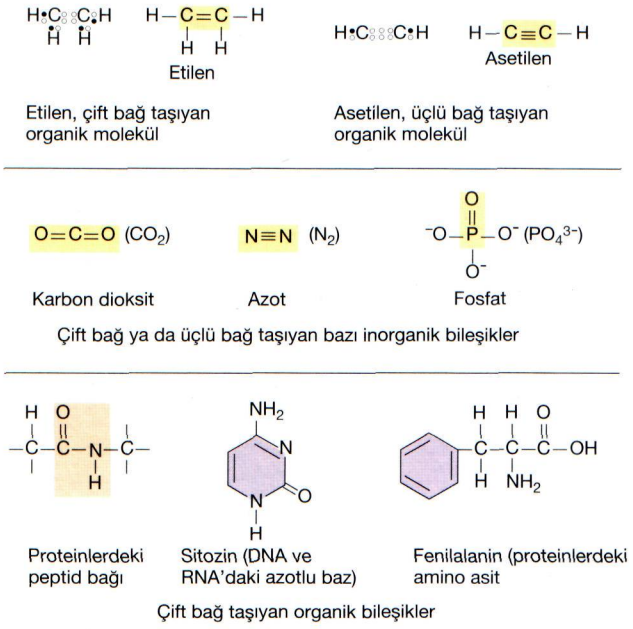


Oksijenin en dıştaki kabuğunda altı elektron, hidrojenin ise sadece bir elektron vardır. Oksijen ve hidrojen su oluşturmak üzere birleştiğinde, kovalent bağlar bu üç atomu sıkı bir birliktelik içinde tutarlar. Molekülün tipine göre, ikili ya da üçlü kovalent bağlar kurulabilir ve bu bağların gücü, sayılarının artışına bağlı olarak büyük ölçüde artar (Şekil 3.1●).

Canlılardaki kimyasal elementler, makromoleküllerin bileşenleri olan ve **monomerler** olarak adlandırılan molekülleri oluşturmak üzere çeşitli kombinasyonlarda bağlanırlar. Dolayısıyla makromoleküller, tekrarlanan monomerik birimlerden oluşan **polimerler**dir. Binlerce farklı monomer bilinmekle birlikte, bunların sadece küçük bir kısmı dört makromolekül sınıfında önemli rol oynar. Monomerlerin kimyasal özellikleri, bir araya gelerek oluşturdukları makromoleküle özgün yapı ve işlev kazandırır.

Hidrojen Bağları

Kovalent bağlara ek olarak, zayıf kimyasal bağlar da biyolojik moleküllerde önemli roller üstlenirler. *Hidrojen bağları* zayıf kimyasal bağlar grubundadır.



● **Şekil 3.1 İkili ve üçlü kovalent bağlar içeren bazı moleküller.** Asetilen ve etilen molekülleri için elektron konfigürasyonları gösterilmiştir.

Hidrojen bağları (Şekil 3.2●) hidrojen atomları ile oksijen ya da azot gibi daha *elektronegatif* (elektron çeken) elementler arasında kurulur.

Örneğin, bir oksijen atomu oldukça elektronegatif olduğu halde, hidrojen atomu bu özellikte değildir. Oksijen ile hidrojen arasındaki kovalent bağda paylaşılan elektronlar, oksijenin çekirdeğine biraz daha yakın konumda bulunurlar. Elektronlar negatif yük taşıdıkları için, bu durum oksijenin negatif, hidrojenin ise pozitif yüklü hale gelmesine yol açacak bir yük ayrımı yaratır (Şekil 3.2*a*). Tek bir hidrojen bağı çok zayıftır. Ancak, bir molekülün kendi içinde ya da farklı moleküller arasında çok sayıda hidrojen bağı kurulduğunda, bu moleküllerin kararlılığı büyük ölçüde artar.

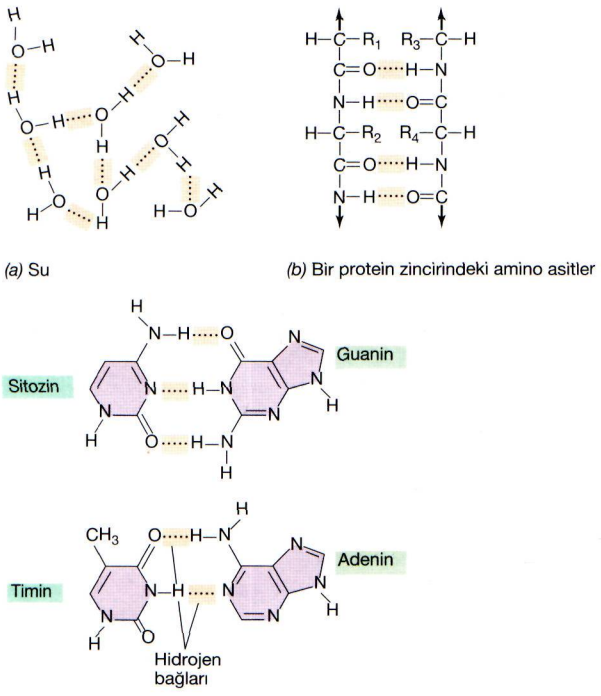
Su molekülleri kolayca hidrojen bağları kurabilirler (Şekil 3.2*a*) ve bu durum suya özgün bir *polarite* kazandırır. Su molekülleri **polar** oldukları için, kolayca bir araya gelirler ve **polar-olmayan** (hidrofobik) moleküllerden uzaklaşırlar. Su molekülleri çözelti içinde konumlanırken, bir hidrojen atomu üzerindeki kısmî pozitif yük, iki oksijen atomunun negatif yükleri arasında bir köprü oluşturur. Bu köprü bir hidrojen bağıdır.

Hidrojen bağları makromoleküllerdeki atomlar arasında da kurulur (Şekil 3.2*b* ve *c*). Bu zayıf elektriksel güçler, örneğin protein gibi büyük bir molekülün içinde biriktiklerinde, molekülün kararlılığını artırır ve onun yapısını etkilerler. Daha sonraki kısımlarda, hidrojen bağlarının proteinlerin (Şekil 3.2*b*) ve nükleik asitlerin (Şekil 3.2*c*) biyolojik özelliklerinde çok önemli rol oynadıklarını göreceğiz (Bkz. Kısım 3.5, 3.7 ve 3.8).

Diğer Zayıf Bağlar

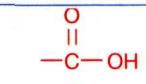
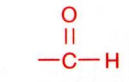
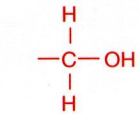
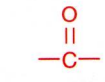
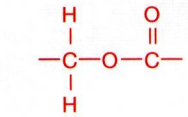
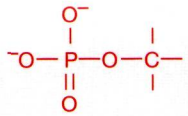
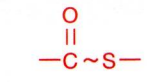
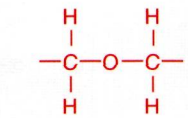
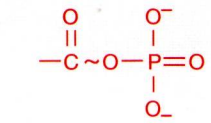
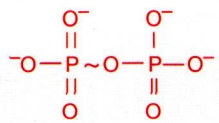
Biyomoleküllerde başka zayıf etkileşimler de ortaya çıkabilir. Örneğin **van der Waals güçleri**, atomlar arasındaki uzaklık 3-4 angström'den (Å) daha kısa olduğunda ortaya çıkan zayıf çekim güçleridir. van der Waals güçleri substratların enzimlere bağlanmasında (Kısım 5.5) ve protein-nükleik asit etkileşimlerinde önemli rol oynarlar. **İyonik bağlar** NaCl'deki Na^+ ile Cl^- arasındaki zayıf etkileşimler tipindeki bağlardır. Bu etkileşimler, sulu çözelti içinde iyonizasyona izin verirler. Karboksilik asitler ve fosfatlar (Bkz. Tablo 3.1) gibi birçok önemli biyomolekül, sitoplazmik pH düzeylerinde (genellikle 6-8 civarında) iyonize durumdadır ve bundan ötürü sitoplazmada büyük ölçüde çözünebilir.

Hidrofobik etkileşimler de biyomoleküllerde önemli yer tutarlar. Hidrofobik etkileşimler, polar-olmayan moleküllerin ya da polar-olmayan molekül kısımlarının polar ortamda sıkıca bir araya gelme eğilimleri sonucunda ortaya çıkarlar. Hidrofobik etkileşimler proteinlerin katlanmasında ve substratların enzimlere bağlanmasında önemli rol oynarlar (Kısım 5.5) Bunlara ek olarak, hidrofobik etkileşimler birden fazla alt birim taşıyan proteinlerde farklı alt birimlerin, biyolojik aktivite-



● **Şekil 3.2 Hidrojen bağları.** Nükleik asitlerdeki hidrojen bağları genellikle noktalı yerine çizgi şeklinde gösterilir. Adenin/timin çiftleri arasında iki, guanin/sitozin çiftleri arasında ise üç adet çizgi yer almaktadır (Bkz. Şekil 3.11). (b)'deki R harfi her amino asidin yan zincirini temsil etmektedir (Bkz. Şekil 3.12).

Tablo 3.1 Biyolojik önemi olan bazı işlevsel gruplar

Kimyasal türler	Yapı	Biyolojik işlevi
Karboksilik asit		Organik asitler; amino asitler; yağ asitleri; lipidler; proteinler
Aldehit		Glukoz gibi redüktör şekerlerin işlevsel grubu; polisakkaritler
Alkol		Lipidler; karbohidratlar
Keto		Piruvat, sitrik asit döngüsü ara ürünleri
Ester		*Bacteria* ve *Eukarya* lipidleri; amino asidin tRNA'lara bağlanması
Fosfat esteri		Nükleik asitler, DNA ve RNA
Tioester		Enerji metabolizması; yağ asitleri biyosentezi
Eter		*Archaea* lipidleri; sfingolipidler
Asit anhidrit		Enerji metabolizması, örneğin asetil fosfat
Fosfoanhidrit		Enerji metabolizması, örneğin ATP

[a] (~) işareti "enerjice-zengin" bağı göstermektedir (Kısım 5.8)

ye sahip bir molekül oluşturacak şekilde nasıl bir araya geleceklerini de kontrol eder ve RNA'nın kararlılığında da önemli yer tutarlar.

Biyomoleküllerdeki Bağlanma Tipleri

Karbon elementi tüm makromoleküllerin en temel bileşenidir. Karbon sadece diğer karbon atomları ile değil, çok çeşitli ve kompleks büyük yapılar oluşturacak şekilde, çok sayıda başka element ile de bağlanabilir. Farklı *organik* (karbon içeren) bileşiklerde çeşitli bağlanma biçimleri mümkündür. Bu *fonksiyonel grupların* her biri özgün kimyasal özelliklere sahip olup, bu özellikleri onların hücredeki biyolojik rollerinin belirlenmesinde önemlidir. Bu fonksiyonel grupların öğrenilmesi, makromoleküler yapı, hücre fizyolojisi ve biyosentez konularında daha ileride karşımıza çıkacak bilgilerin anlaşılmasında kolaylık sağlayacaktır. Tablo 3.1, biyokimyasal öneme sahip çeşitli fonksiyonel grupları ve bunları bulunduran molekül ve makromolekül örneklerini listelemektedir.

3.1 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Kovalent bağlar makromoleküllerdeki atomları birbirine bağlayan güçlü bağlardır. Hidrojen bağları, van der Waals güçleri ve hidrofobik etkileşimler de makromoleküler yapıyı etkilemekle birlikte, bunlar daha zayıf atomik etkileşimlerdir. Karbon atomları içeren çeşitli fonksiyonel gruplar, biyomokeküllerde sıklıkla yer alırlar.

- Kovalent bağlar neden hidrojen bağlarından daha güçlüdür?
- Hidrojen bağı makromoleküler yapıda nasıl bir rol oynar?

3.2 Makromoleküllere ve Canlılardaki Çözücü Olan Suya Genel Bakış

Eğer bağırsakta yaygın olarak bulunan *Escherichia coli* bakterisi gibi prokaryotik bir hücreyi kimyasal olarak analiz etseydiniz, neler bulurdunuz? Asal bileşen olarak su bulurdunuz. Suyu uzaklaştırdıktan sonra, büyük miktarlarda makromolekülleri, çok daha az miktarlarda da monomerleri ve çeşitli inorganik iyonları bulurdunuz (Tablo 3.2). Bir hücrenin kuru ağırlığının yaklaşık %95'i makromoleküllerden ibarettir. Bunlar arasında ağırlık açısından en büyük kısmı oluşturan sınıf *proteinler*dir (Tablo 3.2).

Proteinler *amino asit* adı verilen monomerlerin polimerleridir. Proteinler hücrenin her yerinde bulunur ve hem yapısal hem de katalitik (enzimatik) roller üstlenirler (Şekil 3.3*a*●). Ortalama bir hücre, binlerce farklı protein içerir (Tablo 3.2).

Nükleik asitler nükleotitlerin polimerleridir ve hücrede RNA ve DNA olmak üzere iki formda bulunurlar. Aktif olarak büyüyen bir hücrede, proteinlerden sonra en bol bulunan makromolekül *ribonükleik asitler* (RNA'lar) dir (Tablo 3.2 ve Şekil 3.3*b*). Bunun nedeni her hücrede binlerce ribozom (yeni proteinleri yapan "makineler") bulunması ve ribozomların RNA ve proteinden oluşmasıdır. Bunlara ek olarak hücrelerde, protein sentezinde anahtar rol oynayan elçi ve transfer RNA'lar da daha küçük miktarlarda bulunur. RNA'nın aksine DNA, bakteri hücresinin (ağırlık olarak) oldukça önemsiz bir kısmını oluşturur (Tablo 3.2). Niceliksel olarak hücrenin küçük bir kısmını oluşturmakla birlikte, hücrenin işleyişinde genetik bilgi taşıyıcısı olarak merkezi bir rol oynayan molekül DNA'dır.

Lipidler hem hidrofobik, hem de hidrofilik özelliklere sahip olup, zar yapısında ve fazla karbonun depolanmasında kritik roller oynarlar (Şekil 3.3*d*). **Polisakkaritler** *şekerlerin* polimerleridir ve temel olarak hücre duvarında yer alırlar. Lipidler gibi polisakkaritler de, örneğin glikojen halinde, hücredeki asal enerji deposu ve karbon formu olarak işlev görürler (Şekil 3.3*c*).

Bir Biyolojik Çözücü Olarak Su

Hücrelerdeki makromoleküller ve diğer moleküller su banyosu içinde yer alırlar. Suyun sahip olduğu çeşitli kimyasal özellikler, onun ideal bir biyolojik çözücü olmasına neden olur. Gerçekten su, canlılık için zorunlu önkoşuldur. Suyu iyi bir çözücü yapan iki özelliği *polaritesi* ve *kohesiv* oluşudur.

Tablo 3.2 Bir prokaryotik hücrenin kimyasal bileşimi[a]

Molekül	Kuru ağırlık yüzdesi[b]	Hücre başına düşen moleküller (farklı tiplerde)
Toplam makromoleküller	96	24,610,000 (~2500)
Protein	55	2,350,000 (~1850)
Polisakkarit	5	4,300 (2)[c]
Lipid	9.1	22,000,000 (4)[d]
Lipopolisakkarit	3.4	1,430,000 (1)
DNA	3.1	2.1 (1)
RNA	20.5	255,500 (~ 660)
Toplam monomerler	3.0	—[e](~350)
Amino asitler ve öncülleri	0.5	—(~100)
Şekerler ve öncülleri	2	—(~50)
Nükleotitler ve öncülleri	0.5	—(~200)
İnorganik iyonlar	1	—(18)
Toplam	%100	—

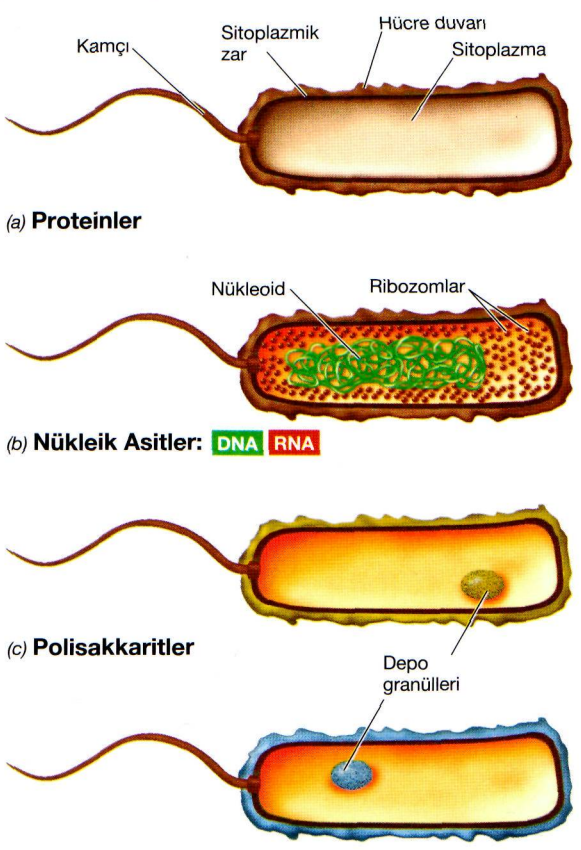
[a] Neidhardt, F.C., et al. (eds.), 1966, *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium-Cellular and Molecular Biology*, 2nd edition. American Society for Microbiology, Washington, DC.

[b] Aktif büyüme içinde olan bir *E.coli* hücresinin kuru ağırlığı =2,8 × 10^{-13} g; toplam ağırlığı (%70 su) = 9,5 × 10^{-13} g'dır.

[c] Temel polisakkaritlerin peptidoglikan ve glikojen olduğu varsayılmıştır.

[d] Farklı türlerde ve gelişme koşullarında yağ asidi bileşimi değişkenlik gösterdiği için, çok çeşitli fosfolipid sınıfı bulunmaktadır.

[e] Monomer ve inorganik iyon bileşimi için güvenilir tahmin bulunmamaktadır.



● **Şekil 3.3 Makromoleküllerin hücre içindeki yerleşimleri.** (a) *Proteinler* (kahverengi) hücrenin her yerinde, hücresel yapıların bileşenleri ve enzimler halinde bulunur. Kamçı, yüzme hareketi ile ilgili bir yapıdır. (b) *Nükleik asitler*. DNA (yeşil) prokaryotik hücrelerin nükleoidinde, ökaryotik hücrelerin çekirdeğinde yer alır. RNA (turuncu) sitoplazma (mRNA, tRNA) ve ribozomlarda (rRNA) bulunur. (c) *Polisakkaritler* (sarı) hücre duvarı ve bazı durumlarda da hücre içindeki depo granüllerinde yer alırlar. (d) *Lipidler* (mavi) sitoplazmik zar, hücre duvarı ve depo granüllerinde bulunur.

Suyun polar özellikleri önemlidir; çünkü, biyolojik olarak önemli olan birçok molekül de polardır (Tablo 3.2) ve bu nedenle kolayca suda çözünür. Bölüm 4'de göreceğimiz gibi çözünmüş bileşikler, sitoplazmik zarın taşıma etkinlikleri aracılığı ile sürekli olarak hücre içine ya da dışına taşınırlar (Kısım 4.6 ve 4.7). Bu bileşikler arasında yeni hücre materyallerinin kurulması için gerekli besinler ve metabolik süreçlerin atık ürünleri yer alır.

Suyun polar özellikleri, su ile hidrojen bağları kurabilen büyük moleküllerin bir araya gelmelerini de kolaylaştırır. Su hem kendi (Şekil 3.2*a*), hem de makromoleküller içinde üç boyutlu ağ örgüleri oluşturur. Bu nitelik biyomoleküller içindeki atomların potansiyel etkileşimlerde bulunabilecek şekilde, su aracılığı ile uygun konumlar kazanmalarına olanak verir. Suyun yüksek polaritesinin hücreye sağladığı bir başka yarar, *polar-olmayan* bileşikleri bir araya gelmeye zorlamasıdır. Örneğin zarlar, bol miktarda lipid içerirler. Lipidler temel olarak polar-olmayan (hidrofobik) bileşenler içerirler ve bu bileşenler, polar moleküllerin hücre içine ya da dışına kısıtlanmaksızın akışını engelleyecek şekilde bir araya gelerek, kümelenirler.

Hidrojen bağlarının yanı sıra suyun polar niteliği de, onu büyük ölçüde *kohesiv* yapar. Bunun anlamı şudur: Su molekülleri birbirlerine karşı aşırı ilgi gösterir ve kimyasal olarak düzenli birliktelikler oluştururlar. Bu birlikteliklerdeki hidrojen bağları sürekli olarak kırılır ve yeniden kurulurlar (Şekil 3.2). Suyun kohesiv niteliği, onun *yüksek yüzey gerilimi* ve *yüksek özgül ısısı* (sıcaklığı 1°C yükseltmek için gereken ısı) gibi biyolojik olarak önemli özelliklerinden sorumludur. Suyun donarak katı hale (buz) geçmesi de, ılıman kuşak ve kutuplardaki su ortamlarında yaşayan canlılar üzerinde çok önemli etkiler yapar (buzun özgül ağırlığı sudan daha azdır). Örneğin bir gölün yüzeyindeki buz, alttaki su tabakasını yalıtarak, onun donmasını engeller. Böylece buz tabakasının altındaki sucul organizmaların hayatta kalması mümkün olur.

Canlılık yaklaşık 4 milyar yıl önce su ortamında ortaya çıkmıştır. Yeryüzünde sıvı suyun bulunduğu hemen her yerde mikroorganizmaların da bulunması çok olağandır. Suyun bu önemli özelliklerini göz önünde bulundurarak, canlılardaki temel makromoleküllerin yapılarını (Tablo 3.2 ve Şekil 3.3) incelemeye başlayabiliriz.

3.2 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Hücrelerde en bol bulunan makromolekül sınıfı proteinlerdir. Diğer makromoleküller ise, nükleik asitler (DNA ve RNA), lipidler, polisakkaritler ve lipopolisakkaritlerdir. Polaritesi ve kohesiv oluşu nedeniyle su, canlı organizmalar için iyi bir çözücüdür.

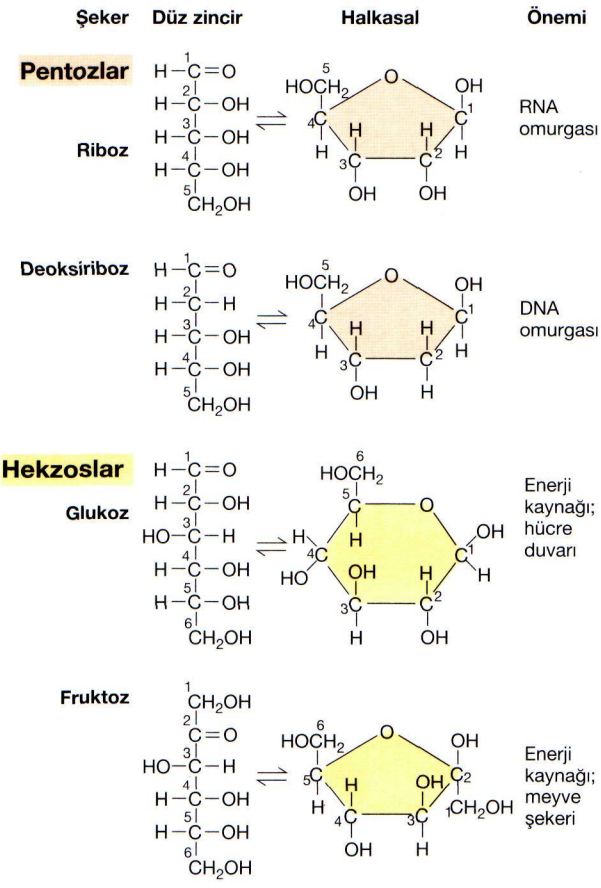
- ◆ Aktif olarak gelişmekte olan bir hücrede, protein ve RNA oranı neden oldukça fazladır?
- ◆ Suyun yüksek polariteye sahip olması onu yararlı bir biyolojik çözücü haline getirir. Bunun nedeni nedir?

II BİLGİ TAŞIMAYAN MAKROMOLEKÜLLER

Bu kısımda *bilgi taşımayan* makromoleküllerin -polisakkaritler ve lipidler- yapı ve işlevlerini gözden geçireceğiz. Bu makromoleküllerdeki monomerlerin dizisi genetik bilgi taşımasa da, bunlar hücrenin yapısal ya da yedek materyali olarak önemli roller üstlenmişlerdir.

3.3 Polisakkaritler

Karbohidratlar (şekerler) 1:2:1 oranında karbon, hidrojen ve oksijen içeren organik bileşiklerdir. En yaygın olarak bulunan şekerlerden biri olan glukozun yapısal formülü $C_6H_{12}O_6$'dır (Şekil 3.4●). Biyolojik öneme sahip karbohidratlar 4, 5, 6 ve 7 karbon atomu içerenlerdir (bunlar C_4, C_5, C_6 ve C_7 olarak gösterilirler). C_5 şekerler (*pentozlar*), nükleik asitlerin yapısal omurgasındaki rollerinden ötürü, özel bir öneme sahiptir. Benzer şekilde C_6 şekerler de (*heksozlar*), hücre duvarındaki polimerlerin ve hücredeki enerji depolarının monomerik bileşenle-



● **Şekil 3.4 Yaygın olarak bulunan bazı şekerlerin yapısal formülleri.** Formüller ya açık zincir ya da halkasal olarak gösterilir. Açık zincirli formülün anlaşılması daha kolay olmakla birlikte, genellikle kullanılan yapı halkasal formdur. Halkadaki numaralandırmaya dikkat ediniz.

ridir. Şekil 3.4, yaygın olarak bulunan bazı şekerlerin yapısal formüllerini göstermektedir.

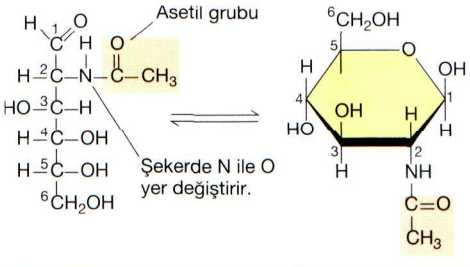
Bir ya da daha fazla hidroksil grubunun diğer kimyasal gruplarla yer değiştirmesiyle, basit karbohidratların türevleri oluşur. Örneğin, bakteri hücre duvarının önemli polimeri olan ***peptidoglikan*** (Kısım 4.8) bir glukoz türevi olan N-asetilglukozamin içerir (Şekil 3.5•). Şeker türevlerinin yanı sıra, aynı *yapısal* formüle sahip şekerler, *stereoizomerik özellikleri* açısından da farklı olabilirler (Bkz. Kısım 3.6). Dolayısıyla, hücresel polisakkaritleri oluşturabilecek çok sayıda farklı şeker mevcuttur.

Glikozidik Bağ

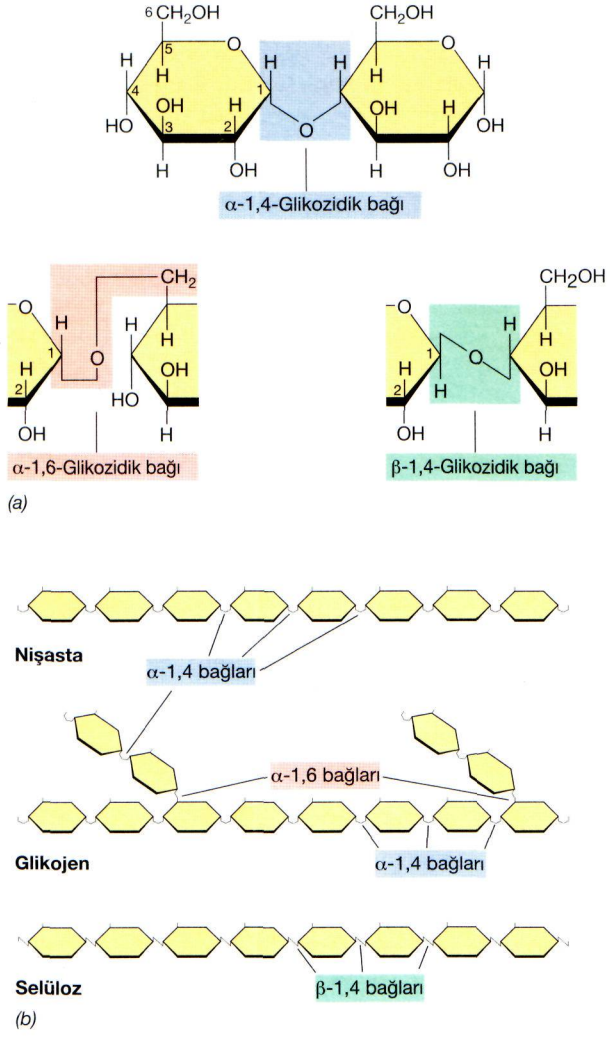
Polisakkaritler, çok sayıda (yüzlerce, hatta binlerce) monomerik birim (*monosakkarit*) içeren karbohidratlardır. Bu monomerik birimler **glikozidik bağ** adı verilen kovalent bağlarla bir araya gelirler (Şekil 3.6•). Eğer iki monosakkarit glikozidik bağ ile bağlanırsa, ortaya çıkan molekül *disakkarit* adını alır. Bu moleküle bir monosakkarit daha eklenirse *trisakkarit*, daha çok sayıda birim eklenirse, *oligosakkarit* ortaya çıkar.

Glikozidik bağ, alfa (α) ve beta (β) olarak adlandırılan iki farklı geometrik düzende bulunabilir (Şekil 3.6*a*). Glikojen ve nişasta (Şekil 3.6*b*) gibi polisakkaritlerdeki glukoz birimlerinin 1 ve 4 no'lu karbonları arasında kurulan glikozidik bağlar, α konfigürasyondadır. Bu iki polisakkarit, bitki, hayvan ve bakterilerdeki en önemli karbon ve enerji deposudur. Buna karşılık, bitki ve alg hücrelerindeki sert duvar yapısında yer alan selüloz, β-1,4 bağları ile bağlı glukoz birimlerinden oluşmuştur (Şekil 3.6*b*). Dolayısıyla, her ikisi de glukoz birimlerinden oluşan nişasta ve selüloz, glikozidik bağlarının farklı konfigürasyonlarda (α ve β) olmasından ötürü, farklı işlevsel özelliklere sahiptir.

Polisakkaritler protein ve lipid gibi diğer makromolekül sınıfları ile bir araya gelerek *kompleks polisakkaritleri* (**glikoprotein** ve **glikolipid**) oluşturabilirler. Bu bileşikler, hücrelerin sitoplazmik zarlarında hücre yüzeyi reseptörleri olarak önemli



• **Şekil 3.5 Bir glukoz türevi olan *N*-asetilglukozamin.** *N*-asetilglukozamin *Bacteria* türlerinin hücre duvarı polisakkaridi olan *peptidoglikan*'ın önemli bir yapısal bileşenidir (Kısım 4.8).



• **Şekil 3.6 Polisakkaritler.** (a) Farklı glikozidik bağ yapıları. Glikozidik bağ etrafında hem *bağlanmanın* (bağlı karbonların halka içindeki pozisyonu) hem de *geometrinin* (α ya da β) değişebildiğine dikkat ediniz. (b) Yaygın olarak bulunan bazı polisakkaritlerin yapıları. Renk kodlamasını (a) ile karşılaştırınız.

rol oynarlar. Bu reseptör moleküller, dış ortam ile temas edecek şekilde, zarın dışa bakan yüzeyinde yerleşmişlerdir. Gram-negatif bakterilerin hücre duvarında büyük oranda bulunan glikolipidler, bu organizmalara bir dizi özgül yüzey özelliği kazandırır (Kısım 4.9).

3.3 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Şekerler uzun polimerler oluşturacak şekilde birleşirler. Bu polimerlere polisakkarit adı verilir. Şeker birimlerini bağlayan glikozidik bağların iki farklı konfigürasyonda bulunması, sonuçta ortaya çıkan moleküllere farklı özellikler kazandırır. Polisakkaritler protein ve lipid gibi moleküllerle de birleşerek, kompleks polisakkaritleri oluştururlar.

◆ Hem glikojen hem de selüloz %100 glukozdan oluştuğu halde, bunların fiziksel özellikleri neden birbirinden farklıdır?

3.4 Lipidler

Hücrelerin zorunlu bileşenlerinden birisi olan **lipidler** *amfipatik* makromoleküllerdir. Amfipatik molekül, hem hidrofilik, hem de hidrofobik özellikler taşır. Canlı domainlerindeki lipid yapıları farklılıklar taşır ve belirli bir domain içinde de çok farklı lipidler bulunabilir. *Bacteria* ve *Eukarya*'daki lipidlerin temel bileşeni *yağ asitleri*dir. Buna karşılık, *Archaea*'daki lipidler hidrofobik bir molekül olan *fitan* yapısındadır (Kısım 4.5).

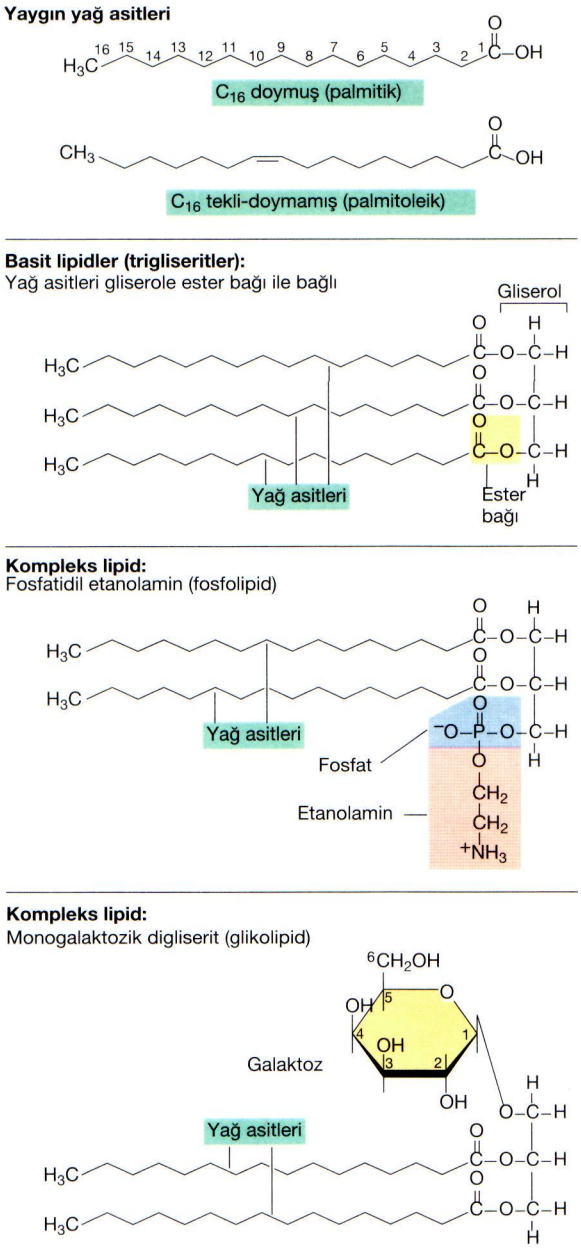
Yağ asitleri hem hidrofobik, hem de hidrofilik bileşenler içerir. Örneğin palmitat (palmitik asidin iyon haline gelmiş formu) (Şekil 3.7●) 16 karbonlu bir yağ asididir. Bu karbonlardan 15 tanesi doymuş (tümüyle hidrojene olmuş ve büyük ölçüde hidrofobik) durumda iken, 16. karbonu içeren karboksilik asit grubu hidrofilik özelliktedir. *Bacteria*'da bulunan diğer yaygın lipidler, 12 ile 20 arasında değişen karbon sayılarına sahip, doymuş ya da tekli-doymamış yağ asitleri içerirler (Şekil 3.7).

Trigliseritler ve Kompleks Lipidler

Basit lipidler (yağlar) C_3 alkol olan *gliserol* ile, buna bağlı yağ asitlerinden (ya da *Archaea*'daki fitanil birimlerinden) oluşur (Şekil 3.7). Basit lipidler trigliseritler olarak da adlandırılır; çünkü gliserol molekülüne üç adet yağ asidi bağlanmıştır.

Kompleks lipidler fosfor, azot ya da kükürt gibi elementleri veya şeker, etanolamin (Şekil 3.7), serin ya da hidrofobik yapıdaki kolin gibi bileşikleri içeren basit lipidlerdir. Fosfat grubu içeren lipidlere **fosfolipidler** adı verilir. Bu gruptaki kompleks lipidler sitoplazmik zarlarda önemli rol oynarlar (Kısım 4.5).

Lipidlerin amfipatik özellikte olması, onları ideal zar bileşenleri haline gitirir. Lipidler, zarları oluşturmak üzere bir araya gelirler; *hidrofilik* kısım (gliserol) ya sitoplazma ya da dış ortam ile temas halinde iken, *hidrofobik* kısım zarın iç kısmına gömülü durumdadır (Kısım 4.5 ve Şekil 4.16). Bu özellikten ötürü zarlar, ideal geçirgenlik bariyerleridir. Polar bileşiklerin lipidlerin hidrofobik kısmından geçme yeteneğinde olmamaları, zar geçirgenliğine engel olur ve sitoplazmik bileşenlerin dışarı sızmasını önler. Ancak bu durum aynı zamanda hücresel işlevler için gerekli olan polar bileşiklerin hücre içine sızmasını da engeller. Bu konu bir sonraki bölümde (Kısım 4.5) ele alınacaktır.



● **Şekil 3.7 Yağ asitleri, basit lipidler (yağlar) ve kompleks lipidler.** Basit lipidler, yağ asitleri ile gliserol arasında ester bağı kurulmasına yol açan dehidrasyon tepkimesi ile oluşurlar. Hücrenin yağ asidi bileşimi, gelişme sıcaklığına bağlı olarak değişir.

3.4 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Lipidler hem hidrofobik, hem de hidrofilik bileşenler içerirler. Bu kimyasal özellikleri nedeniyle lipidler, sitoplazmik zarların ideal yapısal bileşenleridir.

- ◆ Bir yağ asidi molekülünün hangi kısmı hidrofobik, hangi kısmı hidrofiliktir?
- ◆ Fosfolipid ile trigliserit arasında ne fark vardır?
- ◆ Tam doymuş bir C_4 yağ asidi olan bütiratın kimyasal yapısını çiziniz.

III BİLGİ TAŞIYAN MAKROMOLEKÜLLER

Polisakkarit ve lipidlerin aksine nükleik asit ve proteinlerdeki monomerlerin dizisi genetik bilgi taşır. Bu nedenle nükleik asit ve proteinler bilgi taşıyan makromoleküllerdir.

3.5 Nükleik Asitler

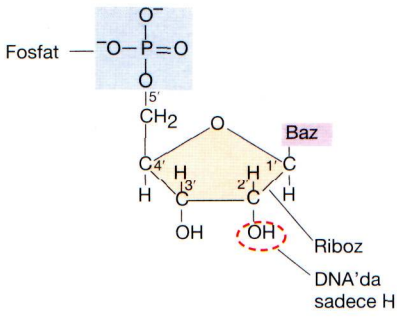
Deoksiribonükleik asit (DNA) ve ribonükleik asit (RNA) *nükleotit* adı verilen monomerlerden oluşan makromoleküllerdir. Bu nedenle DNA ve RNA ***polinükleotitler*** olarak da adlandırılır. Bildiğiniz gibi, DNA hücrenin genetik şifresini taşırken, RNA bu şifreyi proteinlerdeki amino asit dizisine dönüştüren aracı moleküldür (Şekil 1.4).

Bir nükleotit üç çeşit bileşenden oluşur: beş karbonlu şeker (RNA'da riboz, DNA'da deoksiriboz), azotlu baz ve fosfat (PO_4^{3-}). DNA ve RNA'daki nükleotitlerin genel yapıları birbirine çok benzer (Şekil 3.8●).

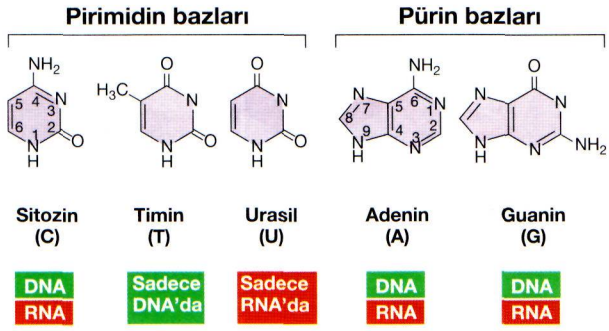
Nükleotitler

Nükleik asitlerdeki azotlu bazlar iki kimyasal gruptan birine dahildir. *Pürin* bazları —***adenin*** ve ***guanin***— iki tane heterosiklik halka (birden fazla çeşitte atom içeren halka) içerir. *Pirimidin* bazları —***timin***, ***sitozin*** ve ***urasil***) altı üyeli tek bir halkaya sahiptir (Şekil 3.9●). Guanin, adenin ve sitozin hem DNA, hem de RNA'da bulunur. Timin (birkaç istisna dışında) sadece DNA'da, urasil ise sadece RNA'da yer alır.

Nükleotitler, pentoz şekerin 1 no'lu karbon atomu ile pirimidin bazının 1 no'lu, pürin bazının ise 9 no'lu azot atomu arasında kurulan glikozidik bağ içerirler. Fosfat taşımayan baz ile buna bağlı şekere ***nükleozid*** adı verilir. Dolayısıyla ***nükleotitler*** bir ya da daha fazla fosfat içeren *nükleozidler*dir (Şekil 3.10●).



● **Şekil 3.8 Nükleotitler.** Şeker üzerindeki numaralar (') üssü işareti taşımaktadır. Bunun nedeni azotlu bazdaki halkasal yapının da numaralandırılmış (1, 2, 3 vs) olmasıdır (Bkz. Şekil 3.9).

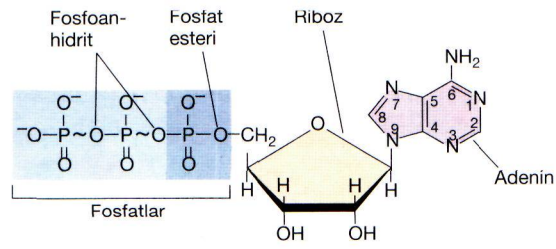


● **Şekil 3.9 DNA ve RNA bazlarının yapısı.** Halkalardaki numaralandırmaya dikkat ediniz. Bazın şeker fosfatın 1' karbonuna bağlanması Şekil 3.8'de gösterilmiştir. Pirimidin bazları halkanın 1 no'lu azotundan, pürin bazları ise 9 no'lu azotundan bağlanır.

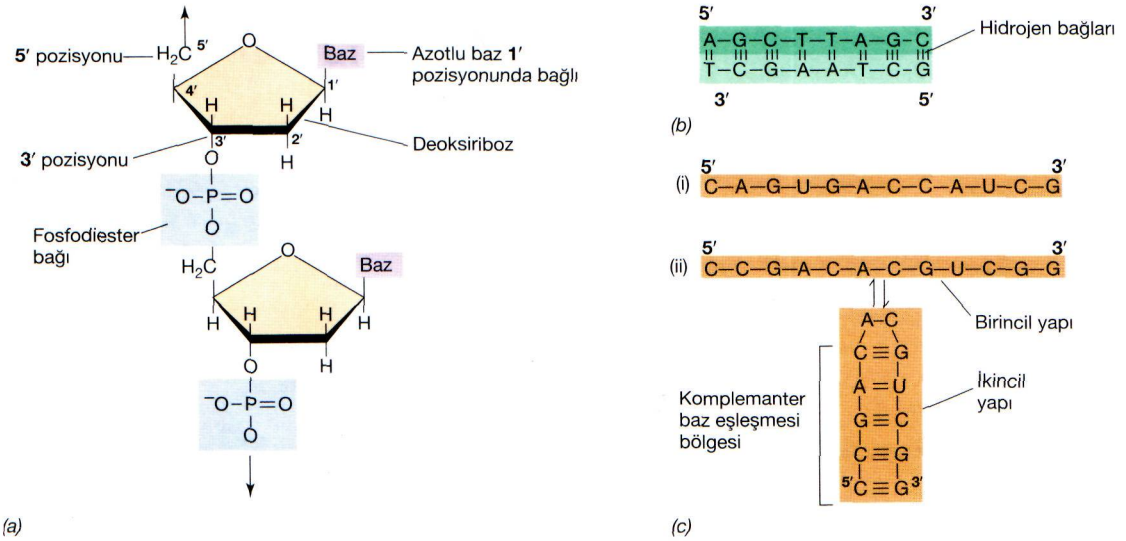
Nükleotitler nükleik asitlerin bileşeni olmalarının yanı sıra, hücrede başka roller de üstlenirler. Nükleotitler ve özellikle de adenozin trifosfat (ATP) (Şekil 3.10), enerji gerektiren hücre tepkimelerinin sürdürülmesi için, fosfat bağının kırılması sırasında yeterli enerji salarak, kimyasal enerjinin temel kaynağını oluşturur (Kısım 5.8). Diğer nükleotitler ya da nükleotit türevleri hücredeki oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinde (Kısım 5.7), polisakkaritlerin biyosentezinde şekerlerin taşıyıcıları olarak (Kısım 5.15) ve çeşitli enzim ya da metabolik olayların etkinliklerini hızlandıran ya da inhibe eden düzenleyici moleküller olarak işlev görürler. Ancak biz burada sadece nükleotitlerin *informasyonal* işlevi üzerinde duracağız. Bu temel işlev, onların nükleik asitlerin yapıtaşı olmalarıdır.

Nükleik Asitler

Nükleik asit omurgası birbirini izleyen şeker ve fosfat moleküllerinden oluşmuş bir polimerdir (Şekil 3.11●) Polinükleotitler, şekerin 3 no'lu karbonuna (3' karbon olarak adlandırılır) bağlı fosfat ile, bir



● **Şekil 3.10 Önemli bir nükleotit olan adenozin trifosfatın yapısı.** Fosfoanhidrit bağının (~ işareti ile gösterilen) hidroliz enerjisi, fosfat esterinin hidroliz enerjisinden yüksektir. Bu özellik Bölüm 5'de incelenen biyoenerjetik açısından önem taşır (Kısım 5.8). Adenozin (bir nükleozid), azotlu bir baz olan adenin ile fosfat grubu içermeyen bir şekerden oluşur.



● **Şekil 3.11** **DNA ve RNA.** (a) Bir DNA zinciri bölümünün yapısı. Azotlu bazlar adenin, guanin, sitozin ve timin olabilir. RNA'da pentoz şekerin 2' karbonunda bir OH grubu vardır ve timin yerine urasil bulunur. (b) Sadece azotlu bazların gösterildiği, basitleştirilmiş DNA yapısı. İki zincirdeki baz dizilerinin komplemanter olduğuna (A═T); G≡C) ve hidrojen bağlarına dikkat ediniz. (c) RNA: (i) Sadece birincil yapı gösteren bir dizilim; (ii) İkincil yapı oluşumuna izin veren bir dizilim. Burada görüldüğü gibi, RNA'nın *zincir-içi* baz eşleşmesine olanak veren kısımlarında ikincil yapılar oluşur. Ribozomal RNA gibi bazı büyük RNA moleküllerinde (Kısım 7.15 ve 11.5) molekülün bazı kısımları sadece birincil yapı içerirken, diğer kısımlar hem birincil hem de ikincil yapı içerir. Bu durum molekülün büyük ölçüde katlanıp, kıvrılmasına yol açar (Şekil 11.11*c*). Bu tip moleküllerin biyolojik işlevi, sonuçta kazandıkları üç-boyutlu biçime bağlıdır.

sonraki şekerin 5 no'lu (5′) karbonu arasında kurulan kovalent bağların birbirine bağladığı nükleotitlerden oluşur (Şekil 3.11*a*). Kimyasal olarak bu fosfat bağı **fosfodiester** bağı niteliğindedir; çünkü tek bir fosfat, ester bağı ile iki ayrı şekere bağlanmış durumdadır (Şekil 3.11*a*).

Bir DNA ya da RNA molekülündeki nükleotitlerin *dizilimi* onun **birincil yapısı** olarak ifade edilir. DNA ya da RNA molekülündeki bazların dizilimi bilgi taşır ve bu bilgi ya proteinlerdeki amino asitlerin dizisini, ya da özgül ribozomal ve transfer RNA'ların dizisini kodlar. DNA replikasyonu ve RNA sentezi hücre yaşamının en belirleyici olaylarıdır (Kısım 1.2 ve Şekil 1.4). Daha sonraki bölümlerde, genetik özelliklerin bir kuşaktan diğerine güvenli bir şekilde aktarılmasını sağlayan, hatadan arınmış bir mekanizma olduğunu göreceksiniz (Bölüm 7).

DNA

Hücre içinde DNA *çift-zincirli* formda bulunur. Her kromozom iki zincirli bir DNA taşır. Bu zincirlerin her biri fosfodiester bağları ile bağlı yüz binlerce ya da milyonlarca nükleotit içerir. Bu zincirler komplemanter nükleotitler arasındaki hidrojen bağları ile bir arada tutulur. Karşılıklı konumdaki pürin ve pirimidin bazları arasında hidrojen bağları kurulur (Bkz. Şekil 3.2*c*).

En kararlı hidrojen bağları guanin (G) ile sitozin (C) ve adenin (A) ile timin (T) arasında kurulur (Bkz. Şekil 3.2*c*). A ile T ve G ile C'nin özgül olarak eşleşmesi, iki DNA zincirindeki baz diziliminin *komplemanter* olması anlamına gelir. Diğer bir deyişle, bir zincirdeki G'ler karşı zincirdeki C'lerle, T'ler ise karşı zincirdeki A'larla eşleşir (Şekil 3.11*b*).

RNA

Birkaç istisna dışında, bütün ribonükleik asitler *tek-zincirli* moleküllerdir. Bununla birlikte, komplemanter baz eşleşmesinin mümkün olduğu RNA kısımlarında, bu molekül kendi üzerine katlanabilir. RNA'nın bu katlanma biçimi ***ikincil yapı*** olarak adlandırılır (Şekil 3.11*c*).

RNA, hücrelerde üç kritik rol üstlenir. ***Elçi RNA*** (mRNA) DNA'nın bir zincirindeki genetik bilgiye komplemanter olan bilgiyi içerir. ***Transfer RNA'lar*** (tRNA'lar) protein sentezindeki "adaptör" moleküllerdir. Transfer RNA'lar nükleotit dilindeki genetik bilgiyi, proteinlerin yapıtaşları olan amino asitlerin diline dönüştürürler. ***Ribozomal RNA'lar*** (rRNA'lar) birkaç tipte olup, hücrenin protein sentez sistemi olan *ribozom*'un yapısal ve katalitik bileşenleridir. RNA molekülleri Bölüm 7 ve Bölüm 11'de daha ayrıntılı olarak ele alınacaktır.

3.5 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Nükleik asidin bilgi içeriği, polinükleotit zincirindeki azotlu bazların dizisi tarafından belirlenir. Hem RNA, hem de DNA bilgi taşıyan makromoleküllerdir. RNA, ikincil yapı kazanmak üzere çeşitli konfigürasyonlarda katlanabilir.

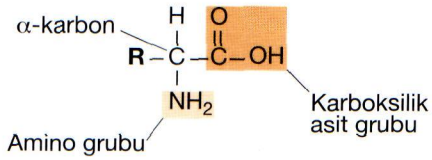
- Bir *nükleotit*de hangi bileşenler bulunur?
- *Nükleozit* ile *nükleotit* arasında ne fark vardır?
- RNA'nın *birincil* ve *ikincil* yapısı arasındaki farkı belirtiniz.

3.6 Amino Asitler ve Peptid Bağı

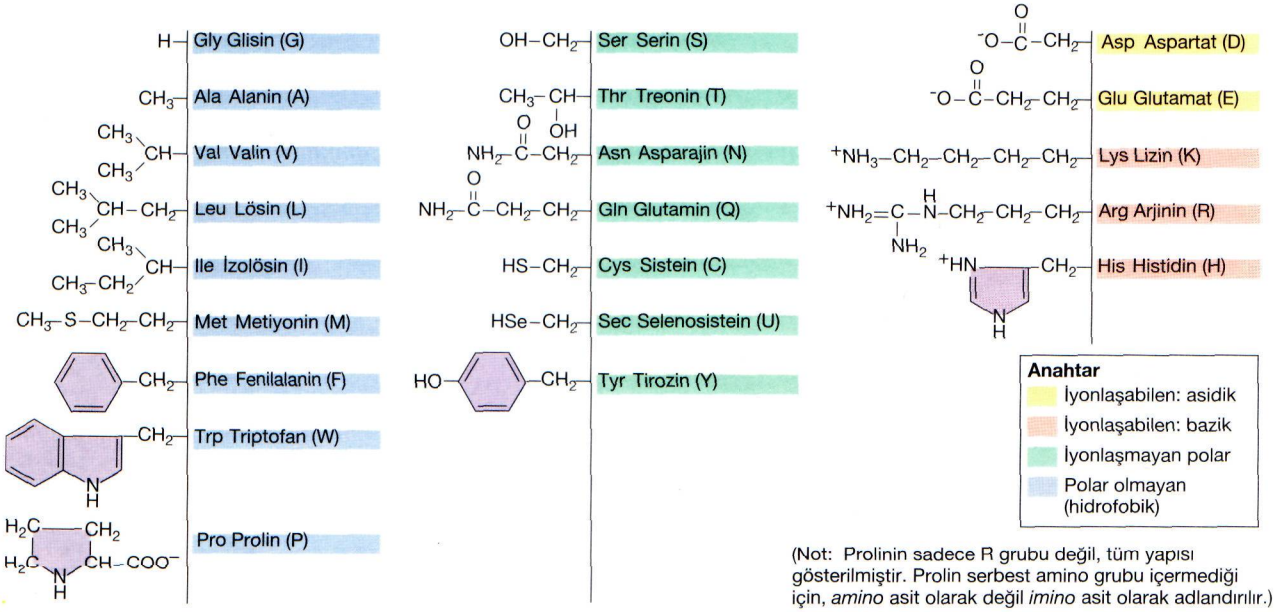
Amino asitler **proteinler**in monomerleridir. Amino asitlerin çoğu sadece karbon, hidrojen, oksijen ve azot içerdiği halde, hücrelerde yaygın olarak bulunan 21 amino asitten ikisi kükürt, bir tanesi ise selenyum içerir. Bütün amino asitler bir tane *karboksilik asit* (—COOH) ve bir tane de *amino* grubu (—NH_2) olmak üzere, iki önemli fonksiyonel grup içerir (Tablo 3.1 ve Şekil 3.12*a*●). Bu gruplar önemlidir; çünkü, kovalent bağlar bir amino asidin karboksil karbonu ile, bir sonraki amino asidin amino azotu arasında (bir molekül su çıkışı ile) kurulur ve **peptid bağı** bu şekilde oluşur (Şekil 3.13●).

Bütün amino asitler Şekil 3.12*a*'da gösterilmiş olan genel yapıya sahiptir. Buna ek olarak, her amino asit, α-karbona bağlı yan grup (Şekil 3.12*a*'da R olarak kısaltılmıştır) açısından diğerlerinden farklıdır. α-Karbon, karboksilik asit karbonunun hemen yanındaki karbon atomudur. Yan zincirlerin yapısı, glisindeki gibi tek bir hidrojen atomu olabildiği gibi, fenilalaninin aromatik halkası şeklinde de olabilir (Şekil 3.12*b*).

Amino asitlerin kimyasal özellikleri, yan zincirin niteliğine bağlı olduğundan, benzer kimyasal özellikler taşıyan amino asitler Şekil 3.12*b*'de görülen "aileler" halinde gruplanabilirler. Örneğin, yan zincirinde bir karboksilik asit grubu taşıyan aspartik asit ve glutamik asit, *asidik* grupta yer alır. Birden fazla amino grubu taşıyanlar ise, *bazik* amino asitler grubundadır. Bazı amino asitler hidrofobik yan zincire sahiptir. Bunlar *polar-olmayan* amino asitler olarak gruplandırılır. Sistein amino asidi bir



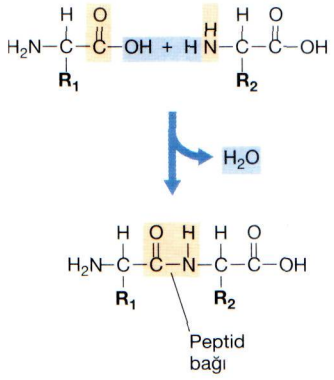
(a) **Bir amino asidin genel yapısı**



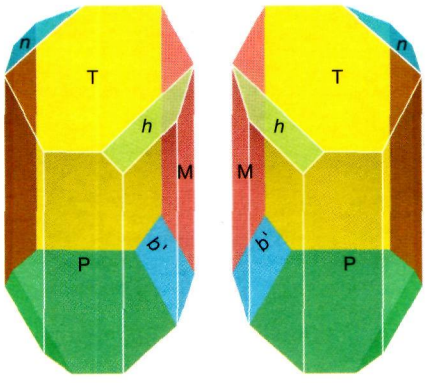
(Not: Prolinin sadece R grubu değil, tüm yapısı gösterilmiştir. Prolin serbest amino grubu içermediği için, *amino* asit olarak değil *imino* asit olarak adlandırılır.)

(b) **Amino asit "R" gruplarının yapısı**

● **Şekil 3.12 Yaygın olarak bulunan 21 amino asidin yapısı.** (a) Genel yapı. (b) R grubunun yapısı. Amino asitlerin üç harfli kodları isimlerinin sol tarafında, bir harfli kodları ise sağ tarafındaki parantez içinde verilmiştir.



● **Şekil 3.13 Peptid bağı oluşumu.** R_1 ve R_2 iki amino asidin değişken (yan zincir) kısmını temsil etmektedir (Bkz. Şekil 3.12). Peptid bağı oluştuktan sonra, yeni bir peptid bağı için serbest bir OH grubu ortaya çıktığına dikkat ediniz (Şekil 7.38).



● **Şekil 3.14 Louis Pasteur'ün optik aktivite üzerine yazdığı meşhur makalesinde kullandığı tartarik asit kristali çizimleri.** (a) Sol-el kristali (L formu). (b) Sağ-el kristali (D formu). İki kristalin birbirinin ayna görüntüsü (enantiyomer) olduğuna dikkat ediniz. Kristallerin yüzeylerindeki harfler Pasteur tarafından iki kristalin ayna görüntüsü yüzeylerini işaretlemek için kullanılmıştır. Ayna görüntüsü yüzeyleri daha açık göstermek için burada renk eklenmiş durumdadır. Pasteur, *Aspergillus* küfünün sadece D-tartaratı metabolize ettiğini göstererek, kimyasal asimetri ile canlılık arasında bir ilişki olduğunu ortaya çıkarmaya çalışmıştır.

sülfidril grubu (—SH) taşır. Bu grup, bir zincirdeki sisteini *disülfid bağı* (R—S—S—R) ile bir başka sisteine bağlar.

Amino asitlerin kimyasal çeşitliliği, (Şekil 3.12*b*) hücrelerin çok farklı biyokimyasal özelliklere sahip, çok sayıda proteini üretmesini mümkün kılar. Örneğin bir *Escherichia coli* hücresi hemen hemen 2000 farklı tipte protein içerir (Tablo 3.2). Bunlar arasında, çözünmüş ya da zar içine yerleşmiş haldeki enzimler, yapısal proteinler, taşıyıcı proteinler, reseptör proteinleri ve daha pek çok protein vardır. Bir proteinin *işlevi*, büyük ölçüde onun *yapısı* tarafından belirlenir. Bunun tersi de doğrudur. Belirli bir işlevi görecek proteinler, sıklıkla yapısal benzerlik taşırlar.

İzomerler

İki molekül aynı yapısal formüle sahip olduğu halde, farklı yapısal formda olabilir. Birbirine benzediği halde, özdeş olmayan bu tip moleküllere izomerler adı verilir. Kendiliğinden oluşum teorisini (Kısım 1.5) yıkan ve ilk ünlü mikrobiyolog olan Louis Pasteur, *optik izomerler* üzerinde çalışan bir kimyacı olarak bilimsel kariyerine başladı. Tartarik asit kristallerindeki (Şekil 3.14●) asimetri, ilk kez Pasteur tarafından keşfedilmiştir. Pasteur daha sonra canlı organizmaların da optikçe aktif (amino asitler ve şekerler gibi) moleküller oluşturabildiklerini gösterdi. (Eğer bir molekülün saf çözeltisi ya da kristali ışığı bir yöne doğru kırıyorsa, bu molekül optikçe aktiftir.)

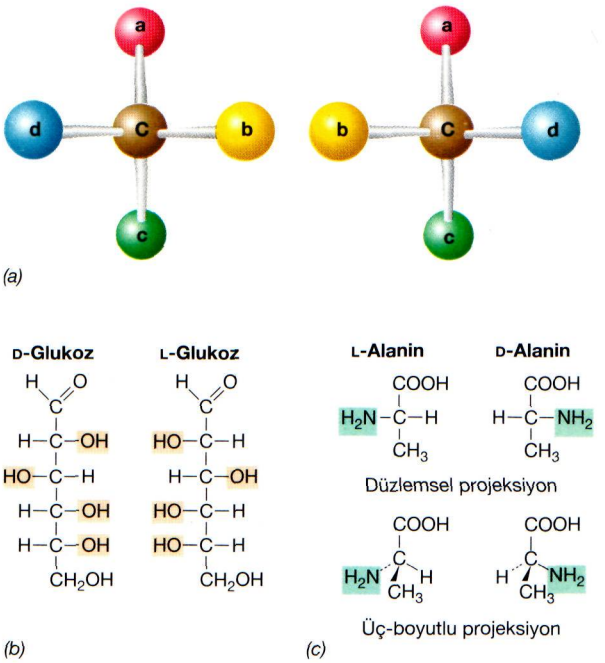
İzomerler hücre yapısı açısından önem taşırlar. Örneğin, yaygın olarak bulunan şekerlerin birçok izomeri *Bacteria* ve *Archaea*'nın hücre duvarı bileşenleridir (Kısım 4.8). Aynı moleküler formüle sahip oldukları halde, sağ el ve sol el gibi birbirlerinin ayna görüntüsü şeklinde olan izomerlere **enantiyomerler** denir ve bunlar D ve L simgeleriyle gösterilirler (Şekil 3.15*b*●). Biyolojik sitemlerde şekerlerin D izomeri çoğunluktadır.

Amino asitler de D ya da L enantiyomerler halinde bulunurlar. Ancak hücreler proteinlerde D-amino asitleri değil, L formundaki amino asitleri kullanırlar (Şekil 3.15*c*). Bununla birlikte hücrelerde D-amino asitler de bulunur. Hücre duvarı polimeri olan *peptidoglikan* (Kısım 4.8) ve bazı peptid antibiyotikler (Kısım 20.9) çoğunlukla D-amino asitler içerir. Hücrelerde bulunan *rasemaz* enzimleri, farklı enantiyomerleri birbirlerine çevirir. Örneğin, bazı prokaryotlar L-şekerleri ya da D-amino asitleri kullanabilirler; çünkü bunları diğer enantiyomere çevirebilme yeteneğindedirler.

3.6 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Hücrelerde yirmi bir çeşit amino asit bulunur ve bunlar *peptid bağı* ile birbirlerine bağlanabilirler. Şekerlerin ve amino asitlerin birbirlerinin ayna görüntüsünde olan formları (enantiyomerler) vardır. Ancak, hücrelerdeki polisakkarit ve proteinlerde bu formlardan sadece biri bulunur.

- Bütün amino asitlerin hem yapısal olarak benzer, hem de farklı olmalarının nedeni nedir?
- Alanin ve tirozin amino asitlerini içeren bir dipeptidin yapısını çizerek, peptid bağını çerçeve içinde gösteriniz.
- Canlı organizmalarda şekerlerin ve amino asitlerin hangi enantiyomerik formu yaygın olarak bulunur? Glisin amino asidi niçin farklı enantiyomerler içermez?



● **Şekil 3.15 İzomerler.** (a) Ayna görüntülerini açıklamak üzere kullanılan top ve çubuk modelleri. (b) Glukozun enantiyomerleri. (c) Alanin amino asidinin enantiyomerleri. Üç-boyutlu görüntüler ne şekilde döndürülürse döndürülsün, asla üst üste çakışmazlar. Üç-boyutlu projeksiyonda gösterilen okun yönü şekle bakan kişiye, kesikli çizgiler ise kâğıt düzleminin altına doğrudur.

3.7 Proteinler: Birincil ve İkincil Yapı

Proteinler hücre işlevlerinde anahtar rol oynarlar. Aslına bakılırsa, bir hücrenin ne olduğu ve ne yaptığı, onun içerdiği proteinlerin çeşidi ve miktarı tarafından belirlenir. Şöyle ki, her farklı hücre tipi, farklı protein setlerine sahiptir. Dolayısıyla, farklı hücre tiplerini anlamak için, protein yapısını anlamak gerekir.

İki temel protein sınıfı vardır: *katalitik* proteinler (*enzimler*) ve *yapısal* proteinler. **Enzimler** hücrelerde cereyan eden çok çeşitli tepkimelerin katalizörleridir (Bölüm 5 ve Bölüm 17). Buna karşılık yapısal proteinler, zarları, duvarları ve sitoplazmik bileşenleri oluşturan hücresel yapıların ayrılmaz kısımlarıdır. Tüm proteinler belirli yapısal özellikleri paylaşırlar.

Birincil Yapı

Proteinler, peptid bağları ile kovalent olarak birbirlerine bağlanmış amino asit polimerleridir (Şekil 3.13). Peptid bağı ile bağlı iki amino asit bir *dipetid*, üç amino asit bir *tripeptid* oluşturur. Çok sayıda amino asidin peptid bağlarıyla bağlanmasıyla oluşan yapı, bir **polipeptid**'dir.

Proteinler bir ya da daha fazla polipeptidden oluşur. Proteinlerdeki amino asitlerin sayısı, bir proteinden diğerine farklılık gösterir. Bu sayı 15 olabildiği gibi, 10.000 de olabilir. Proteinlerin amino asit içeriği, dizilimi ve sayısı farklı olabildiği için, yapı ve dolayısıyla işlevlerinde de büyük bir çeşitlilik olması doğaldır.

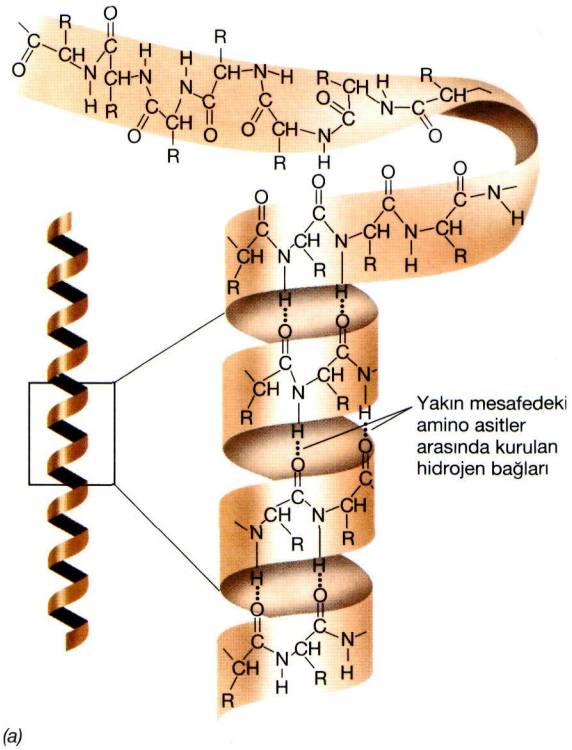
Bir polipeptiddeki amino asitlerin doğrusal dizilimi, o polipeptidin **birincil yapısı** olarak adlandırılır. Polipeptidin birincil yapısı çok önemlidir; çünkü belirli bir birincil yapı, sadece belirli katlanma biçimlerine uygundur ve sadece katlanmış haldeki nihai polipeptid biyolojik aktiviteye sahip olabilir.

İkincil Yapı

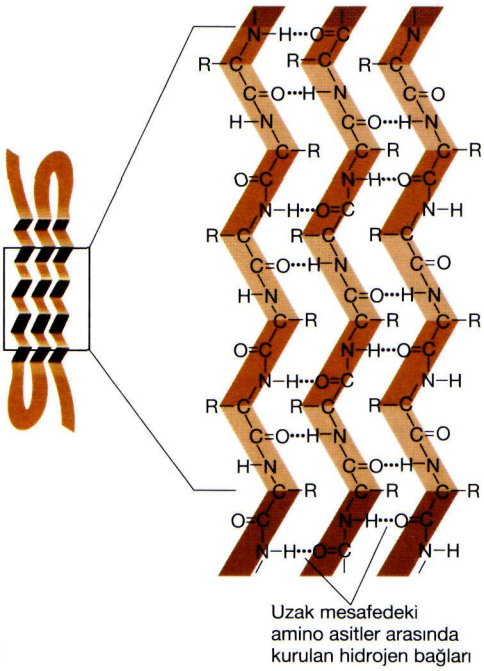
Bir polipeptid üzerindeki amino asitlerin R grupları arasındaki etkileşimler, molekülün özgül bir biçimde kıvrılıp, katlanmasını zorunlu kılar. Bu durum **ikincil yapının** oluşumuna yol açar (Şekil 3.16●). Daha önce sözü edilen kovalent olmayan nitelikteki zayıf hidrojen bağları, (Bkz. Kısım 3.1) polipeptidin ikincil yapısında önemli rol oynarlar. Yaygın olarak bulunan ikincil yapı tiplerinden biri *α-heliks*'dir. α-Heliks, bir silindir etrafına dolanmış, doğrusal bir polipeptid olarak düşünülebilir (Şekil 3.16*a*). Bu kıvrılmış yapıda yer alan farklı amino asitlerin oksijen ve azot atomları, aralarında hidrojen bağları kurulmasına izin verecek kadar birbirlerine yaklaşırlar. Hidrojen bağlarına olanak vermesi, α-helikse kararlılık kazandırır (Şekil 3.16*a*).

Bazı polipeptidlerin birincil yapısı, *β-tabaka* adı verilen bir başka ikincil yapı tipine olanak verir. β-Tabakalı yapıda, amino asit zincirleri, heliks oluşturmak yerine, öne, arkaya kıvrılırlar. β-Tabakadaki katlanma biçimi de α-heliksde olduğu gibi, hidrojen atomlarının hidrojen bağlarına katılmasına olanak verir (Şekil 3.16*b*). Tipik bir β-tabakalı ikincil yapı, çok esnek değildir. Buna karşılık, α-helikal ikincil yapılar daha esnektir. Dolayısıyla, örneğin aktivitesi oldukça esnek olmayı gerektiren bir enzim, daha fazla α-helikal ikincil yapı içerdiği halde, hücre iskeletinde işlev gören bir yapısal protein, daha fazla oranda β-tabakalı ikincil yapıya sahip kısımlar içerebilir.

Birçok polipeptid, α-heliks ve β-tabaka şeklindeki ikincil yapı bölgeleri içerir. Molekül içindeki katlanma biçimi ve bu katlanmaların yeri, hidrojen bağlarının ve hidrofobik etkileşimlerin kurulma olanakları tarafından belirlenir (Bkz. Şekil 3.17). *Domain* adı verilen bu yapısal bölgeler, protein molekülünün özgül işlevlere sahip polipeptid kısımlarıdır.

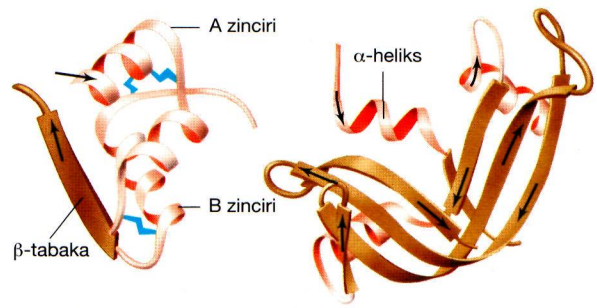


(a)



(b)

● **Şekil 3.16 Polipeptidlerin ikincil yapısı.** (a) α-Heliks. Hidrojen bağlarının R grupları arasında değil, peptid bağı atomları arasında olduğuna dikkat ediniz. (b) β-Tabaka.



(a) İnsulin (b) Ribonükleaz

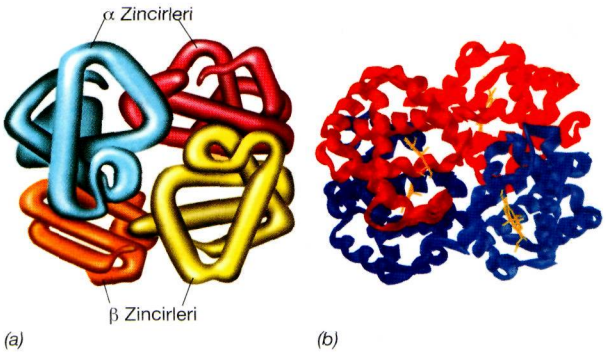
● **Şekil 3.17 Polipeptidin üçüncül yapısında α-heliks ya da β-tabakaların yerleşimleri.** (a) İki zincir içeren *insulin* polipeptidi (Kısım 31.6); B zincirinin hem α-heliks, hem de β-tabaka şeklinde ikincil yapılar içerdiğine ve disülfüt bağlarının (mavi) katlanma biçimini (üçüncül yapı) belirlediğine dikkat ediniz. (b) Çok sayıda α-heliks ve β-tabaka içeren ve büyük bir protein olan *ribonükleaz*.

3.8 Proteinler: Yüksek Yapısal Düzen ve Denatürasyon

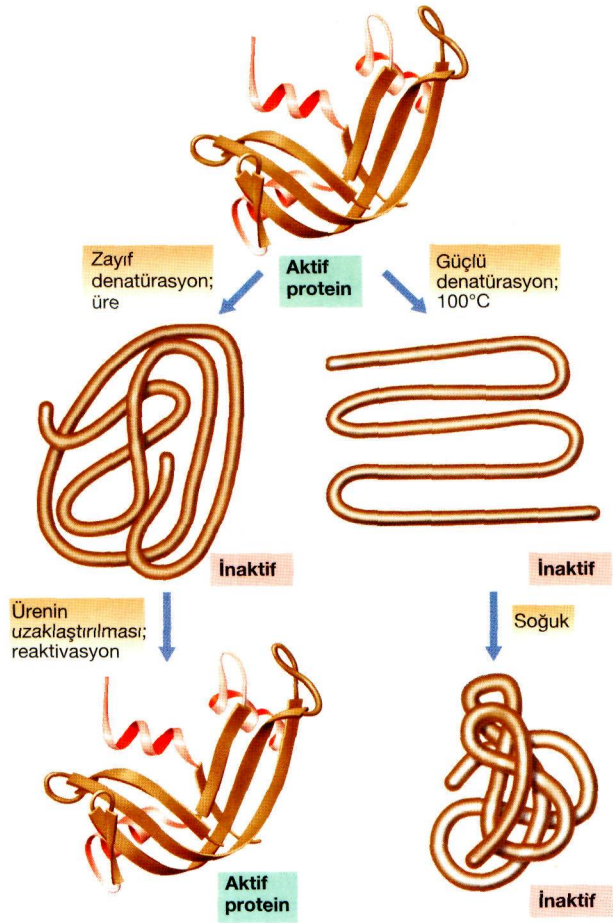
Polipeptid ikincil yapı kazandığında, daha kararlı bir molekül oluşturmak üzere, katlanmaya devam eder. Bu katlanma proteinin özgül üç-boyutlu biçiminin oluşumuna yol açar. Bu üç-boyutlu biçim proteinin *üçüncül yapısı* olarak adlandırılır.

İkincil yapı gibi, **üçüncül yapı** da birincil yapı tarafından belirlenir. Üçüncül yapı, bir ölçüde molekülün ikincil yapısı tarafından da yönlendirilir; çünkü polipeptiddeki amino asit yan zincirleri, özgül bir biçimde konumlandırılmışlardır (Şekil 3.16). Eğer daha fazla hidrojen bağı, kovalent bağ, hidrofobik etkileşim ya da diğer atomik etkileşimler kurulması mümkünse, polipeptidde bunlar da bulunacaktır (Şekil 3.17●). Polipeptidin üçüncül katlanması, sonuçta molekül içinde bazı girinti ya da çıkıntılar oluşturur (Şekil 3.17 ve 3.18 ●). Bunlar, diğer moleküllerin (örneğin substratın enzime ya da DNA'nın özgül düzenleyici proteine) bağlanması için önemlidir (Kısım 5.5 ve Kısım 8.4).

Bir polipeptidin katlanması sistein köklerinin sülfidril gruplarını karşı karşıya getirebilir. Bu serbest — SH grupları, iki sistein arasında bir *disülfit bağı* oluşturacak şekilde, kovalent olarak bağlanabilirler. Eğer iki sistein kökü proteindeki iki farklı polipeptid üzerinde yer alıyorsa, disülfit bağı bu iki molekülü fiziksel olarak birbirine bağlar (Şekil 3.17*a*). Buna ek olarak, bir polipeptid içinde disülfit bağı kurulursa, molekül kendiliğinden katlanabilir.



● **Şekil 3.18 İnsan hemoglobininin dördüncül yapısı.** (a) Hemoglobinde iki çeşit zincir bulunur. α zincirleri mavi ve kırmızı, β zincirleri ise, turuncu ve sarı ile gösterilmiştir (α ve β simgeleri polipeptidlerin ikincil yapılarını değil, zincirlerin isimlerini göstermektedir). Dört zincirin ayrı ayrı fark edilmesi için, ayrı renkler kullanılmıştır. (b) İnsan hemoglobininin x-ışını kristalografisi ile saptanmış olan moleküler yapısı.



● **Şekil 3.19 Ribonükleaz proteininin denatürasyonu.** Ribonükleazın yapısı Şekil 3.17*b*'de anlatılmıştı. Güçlü denatürasyonun neden olduğu yanlış katlanma sonucunda molekülün biyolojik işlevinin kalıcı olarak bozulduğuna dikkat ediniz.

Eğer bir protein iki ya da daha fazla polipeptid içeriyorsa, nihai protein molekülünü oluşturan polipeptidlerin sayısı ve tipi **dördüncül yapı** olarak adlandırılır (Şekil 3.18). Dördüncül yapı gösteren proteinlerdeki her polipeptid *alt birim* olarak adlandırılır. Her alt birim, birincil, ikincil ve üçüncül yapıya sahiptir. Bazı proteinler tek tip alt birimin çoklu kopyalarını içerirler. Örneğin, birbirinin özdeşi iki alt birim içeren bir protein *homodimer* olarak adlandırılır. Bazı proteinler ise özdeş olmayan alt birimler içerebilir. Bunların her biri bir ya da daha fazla kopya halinde bulunur. Örneğin bir *heterodimer*, birbirinden farklı iki polipeptid içerir. Birden fazla alt birim içeren proteinlerdeki alt birimler, kovalent-olmayan etkileşimlerle (hidrojen bağları, van der Waals güçleri ve hidrofobik etkileşimler) ya da alt birimler arasında kurulan kovalent disülfit bağları ile bir arada tutulurlar.

Denatürasyon

Proteinler katlanmalarını etkileyen aşırı sıcaklık veya pH koşullarında, çeşitli kimyasal ya da metallerle karşılaştıklarında denatüre olurlar (Şekil 3.19●). **Denatürasyon,** molekülün üst düzeydeki düzenli yapısını (ikincil, üçüncül ve eğer varsa dördüncül) bozarak, polipeptid zincirinin çözülmesine neden olur. Denatürasyon koşullarının şiddetine bağlı olarak, denatürantın uzaklaştırılmasından sonra, polipeptid tekrar katlanabilir (Şekil 3.19).

Denatüre olan bir protein biyolojik özelliklerini kaybeder. Ancak, peptid bağları denatürasyondan etkilenmez. Dolayısıyla, denatüre olmuş molekülün *birincil yapısı bozulmadan kalır*. Bu durum biyolojik aktivitenin, proteinin birincil yapısının sonucu olmadığını, bunun yerine birincil yapı tarafından belirlenen ve özgül olarak katlanmış biçimin bir fonksiyonu olduğunu gösterir. Diğer bir deyişle, bir polipeptidin katlanması, ona özgül biçimini kazandırır. Bu biçim onun *özgül* biyolojik işlevi ile uyumludur.

Protein denatürasyonu akademik bir ilgi alanı olmanın dışında, mikroorganizmaları yok etmede temel bir yoldur. Örneğin, fenol ve etanol gibi alkoller kolaylıkla hücrelere girebildiği ve hücre proteinlerini geri-dönüşümsüz olarak denatüre ettikleri için, etkili dezenfektanlardır. Dolayısıyla, bu tip kimyasal ajanlar cansız objelerin dezenfeksiyonunda kullanılır ve ev, hastane ya da endüstriyel dezenfeksiyon uygulamalarında çok büyük pratik değer taşırlar (Bölüm 20).

Sonraki Bölümler Hakkında

Buraya kadar canlı kimyasını gözden geçirdiğimize göre, şimdi artık hücrelerdeki yapısal ilişkileri daha iyi anlayabiliriz. Bir sonraki bölümde farklı makromoleküllerin hücredeki zar, duvar ve kamçı gibi temel yapıları oluşturmak üzere nasıl bir araya geldiklerini göreceğiz. Bölüm 5'de hücrelerin metabolik özelliklerini gözden geçireceğiz. Hücrenin *makine* işlevini yapan metabolizma, hücrenin *kodlama* işlevini yapan makromoleküllerinin biyosentezini ve bunların bir araya gelişini yürütür (Kısım 1.2 ve Şekil 1.4). Bu süreçlerin birlikte cereyan etmesi, hücre çoğalması ile sonuçlanır (Bölüm 6). Hücre çoğalması *hücre popülasyonlarını* ortaya çıkarır. Popülasyon grupları ise *mikrobiyal komüniteleri* oluşturur. Komünite düzeyindeki mikroronganizmalar, yaşadıkları habitatlar üzerinde önemli ekolojik etkiler yaratırlar.

Bu kitabın ilerleyen bölümlerinde, arada sırada Bölüm 3'e geri dönerek, canlı kimyasının çerçevesini çizen temel ilkeleri hatırlamak yararlı olacaktır. Mikroorganizmalar hemen hemen sınırsız sayıda makromolekül çeşitliliği evrimleştirmiş olmalarına rağmen, bu çeşitlilik, bu bölümde değinilen dört temel makromolekül sınıfında ortaya çıkar. Her başarılı mikrobiyoloğun bildiği gibi, proteinlerin, lipidlerin, nükleik asitlerin ve polisakkaritlerin biyokimyasını anlamak mikrobiyoloji için zorunludur. Bu bilgi, hem temel hem de daha ileri düzeydeki mikrobiyoloji prensiplerinin kavranmasında büyük yarar sağlayacaktır.

3.8 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Bir proteinin birincil yapısı onun amino asit dizilimi tarafından belirlenmekle birlikte, polipeptidin katlanma biçimi, (üst düzey düzene sahip yapısı) proteinin hücrede nasıl işlev göreceğini belirler.

- Proteinlerdeki *birincil, ikincil* ve *üçüncül* yapı terimlerini tanımlayınız.
- *Polipeptid* ile *protein* arasındaki fark nedir?
- Hangi ikincil yapı özellikleri, β-tabakalı proteinlerin α-heliks içeren proteinlerden daha az esnek olmalarına neden olur?
- Homotetramerik bir proteindeki polipeptidlerin *sayısını* ve *tiplerini* açıklayınız.
- Protein denatürasyonunun yapısal ve biyolojik etkilerini açıklayınız. Protein denatürasyonu ile ilgili bilginin *pratik* değeri nedir?

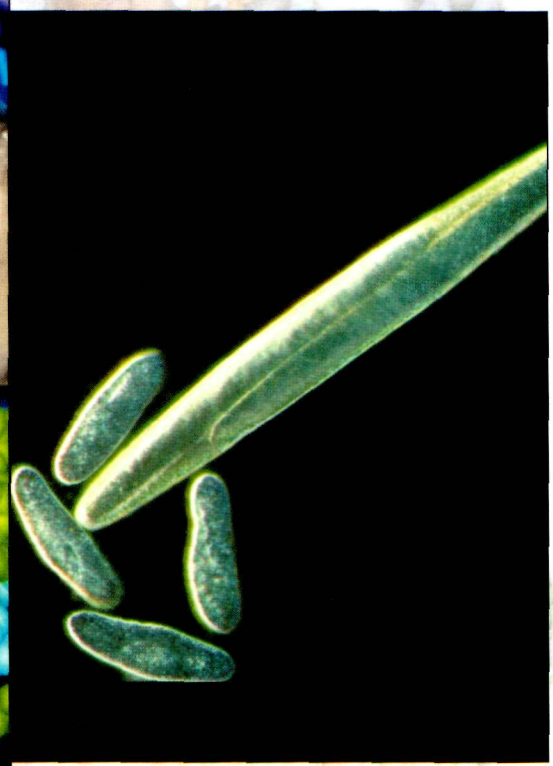
DEĞERLENDİRME SORULARI

1. Canlı organizmalarda bulunan temel elementler hangileridir? Canlı organizmalarda oksijen ve hidrojen neden bol bulunur (Kısım 3.1)?
2. *Molekül* sözcüğünü açıklayınız. Hidrojen gazında kaç tane atom vardır? Glukoz molekülünde kaç tane atom vardır (Kısım 3.1 ve 3.3)?
3. Şekil 3.1'de görülen *sitozin* bazının yapısını inceleyiniz. Bu yapıyı çizerek, sitozin molekülündeki tek ve çift bağların yerlerini işaretleyiniz (Kısım 3.1).
4. *Monomer* ve *polimer* sözcüklerini karşılaştırınız. Biyolojik öneme sahip polimerlere üç örnek vererek, bunları oluşturan monomerleri listeleyiniz. Hücrelerde (ağırlık olarak) en bol bulunan makromolekül sınıfları hangileridir (Kısım 3.1 ve 3.2)?
5. Basit bir lipidi oluşturan bileşenleri listeleyiniz. Trigliserit ile kompleks lipid arasındaki fark nedir (Kısım 3.4)?
6. Şekil 3.7'de görülen trigliserit ve fosfatidil etanolamin yapılarını inceleyiniz. Yağ asidindeki fosfatın etonolamin ile yer değiştirmesi, lipidin kimyasal özelliklerini nasıl değiştirir (Kısım 3.4)?
7. DNA ve RNA benzer makromoleküller olmakla birlikte, belirgin farklılıklar da taşırlar. RNA ile DNA arasındaki fiziksel ve kimyasal farklılıklardan üç tanesini sayınız. DNA ve RNA'nın hücrelerdeki işlevleri nelerdir (Kısım 3.5)?
8. *Amino asitler* neden bu isimle adlandırılır? Bir amino asidin genel yapısını çiziniz. R grubunun protein açısından önemi nedir? Sistein amino asidi protein yapısında niçin özel bir öneme sahiptir (Kısım 3.6)?
9. İki amino asit arasında peptid bağı oluşumuna yol açan kimyasal tepkime tipi nedir (Kısım 3.6)?
10. Proteinler ile ilgili olarak *birincil, ikincil, üçüncül* ve *dördüncül* terimlerini açıklayınız. Bunların hangisi (hangileri) denatürasyondan etkilenir (Kısım 3.7 ve 3.8)?
11. Boşlukları doldurunuz. *Glikozidik* bağ _____ de, _____ bağı polipeptidde, _____ bağı ise nükleik asitte bulunur. Bunların tümü _____ bağlara örnek oluşturur ve _____ gibi zayıf bağlardan çok daha güçlüdür (Bölüm 3).

UYGULAMA SORULARI

1. Aşağıda nükleotit dizilimleri verilen RNA parçalarını inceleyiniz: (a) GUCAAAGAC, (b) ACGAUAACC. Bu RNA moleküllerinden biri ikincil yapıya sahip olabilir mi? Eğer bu mümkünse, olası ikincil yapıyı çiziniz.
2. Bazı çözünür (sitoplazmik) proteinlerin hidrofobik amino asit içerikleri oldukça fazladır. Bu proteinlerin üçüncül yapılarını kazanmak üzere nasıl katlanacağını tahmin edersiniz? Neden?
3. *Archaea* grubunun *Halobacterium* cinsindeki mikroorganizmalar 5 molar'ın (M) üzerinde potasyum (K^+) içeren çok tuzlu ortamlarda yaşarlar. Bu yüksek K^+ içeriğinden ötürü *Halobacterium* hücrelerinin birçok sitoplazmik proteini, işlevsel olarak kendilerine benzeyen *Escherichia coli* (sitoplazmasında çok düşük düzeylerde K^+ içeren) proteinlerine göre iki özgül amino asit açısından zengindirler. *Halobacterium* proteinlerinde bol bulunan bu amino asitler hangileridir ve neden? (İpucu: K^+'dan ileri gelen pozitif yükleri en iyi nötralize eden amino asitler hangiledir?)
4. İnsan bağırsağında yaşayan *Escherichia coli* bakterisinden hazırlanan bir kültür, kaynar su içeren bir behere konulduğunda, hücreler hemen önemli değişime uğrar. Buna karşılık sıcak su kaynaklarında optimum üreme gösteren ve hipertermofilik bir bakteri olan *Pyrodictium* aynı uygulamaya tabi tutulduğunda, benzer değişiklikler ortaya çıkmaz. Bunun nedenini açıklayınız.
5. Şekil 3.6*b*'yi inceleyiniz ve bu polimerlerin her birine özgü farklılıkları belirtiniz. Eğer bu polimerlerdeki tüm glikozidik bağlar hidroliz edilirse, hangi molekül ortaya çıkar?
6. Şekil 3.12*b*'yi inceleyiniz. Mavi ile gösterilen tüm amino asitleri bir "aile" içinde toplayan ortak kimyasal özellik nedir?

4 HÜCRE YAPISI/İŞLEVİ



Prokaryotik hücrelerin büyük bir bölümü çok küçük olmakla birlikte, bazıları çok büyüktür. Buradaki fotomikrografta bir ökaryot olan *Paramecium* hücrelerinin yanında bir prokaryot olan *Epulopiscium* hücresi görülmektedir.

I MİKROSKOBİ VE HÜCRE MORFOLOJİSİ 56

4.1 Işık Mikroskobu 56
4.2 Üç-Boyutlu Görüntüleme: İnterferens Kontrast, Atomik Güç ve Konfokal Taramalı Lazer Mikroskoplar 60
4.3 Elektron Mikroskop 62
4.4 Hücre Morfolojisi ve Küçük Olmanın Önemi 63

II HÜCRE ZARLARI VE HÜCRE DUVARLARI 66

4.5 Sitoplazmik Zar: Yapısı 66
4.6 Sitoplazmik Zar: İşlevi 69
4.7 Zardaki Taşıma Sistemleri 71
4.8 Prokaryotik Hücre Duvarı: Peptidoglikan ve Buna Benzeyen Moleküller 74
4.9 Gram-Negatif *Bacteria*'da Dış Zarı 79

III YÜZEY YAPILARI VE PROKARYOTLARDAKİ İNKLÜZYONLAR 82

4.10 Bakterilerdeki Hücre Yüzeyi Yapıları 82
4.11 Hücre İnklüzyonları 83
4.12 Gaz Vezikülleri 85
4.13 Endosporlar 87

IV MİKROBİYAL HAREKET 91

4.14 Kamçı ve Hareket 92
4.15 Kayma Hareketi 95
4.16 Davranışsal Cevap Olarak Hücre Hareketi: Kemotaksis ve Fototaksis 97

BÖLÜMLE İLGİLİ SÖZLÜK

ABC (ATP-Binding Cassette) taşıyıcısı üç proteinden oluşan bir zar taşıma sistemi. Bu proteinlerden bir tanesi özgül besinleri hücre içine taşımak için ATP'yi hidroliz eder

Çözünürlük iki ayrı objeyi tek tek ayırt edebilme yeteneği

Dış zar gram-negatif *Bacteria* grubundaki hücrelerin peptidoglikan tabakasının dışında bulunan, fosfolipid ve polisakkarit içeren ünit membran

Endospor bazı gram-pozitif *Bacteria* tarafından üretilen, ısıya çok dirençli, kalın-duvarlı farklılaşmış yapı

Fototaksis Bir organizmanın ışığa doğru hareket etmesi

Gaz vezikülleri protein yapısında çepere sahip olan, hücreyi yüzdürebilen ve gaz ile dolu sitoplazmik yapılar

Gram-negatif hücre duvarında az miktarda peptidoglikan içeren, lipopolisakkarit, lipoprotein ve diğer kompleks makromoleküller içeren bir dış zara sahip olan prokaryotik hücre

Gram-pozitif hücre duvarında fazla miktarda peptidoglikan içeren ve gram-negatif hücrelerde bulunan dış zardan yoksun olan prokaryotik hücre

Grup translokasyonu taşınan bileşiğin aktarım sırasında kimyasal olarak değişikliğe uğratıldığı, enerji-gerektiren taşıma işlemi

Kamçı prokaryotik hücrelerdeki yüzme hareketinden sorumlu olan ve rotasyon yeteneğine sahip, ince, uzun hücresel uzantı

Kapsül bazı bakterilerde bulunan ve genellikle oldukça kaygan yapılı olan, en dıştaki polisakkarit ya da protein tabaka

Kemotaksis bir organizmanın kimyasal bir gradiyente doğru (*pozitif*) ya da ondan uaklaşacak şekilde (*negatif*) hareket etmesi

Lipopolisakkarit (LPS) gram-negatif *Bacteria*'da dış zarın temel kısmını oluşturan, polisakkarit ve protein ile birlikte bulunan lipid

Magnetozomlar magnetotaktik *Bacteria*'nın sitoplazmasında ünit membran yapısında olmayan zarla çevrili yapılar içinde organize olmuş magnetit (Fe_3O_4) partikülleri

Morfoloji bir hücrenin biçimi (çubuk, kok, spiral vb.)

Peptidoglikan tekrarlanan asetilglukozamin ve asetilmuramik asit birimlerinden oluşan, kısa peptidlerle birbirine çapraz bağlanmış tabakalar halinde düzenlenmiş polisakkarit

Periplazma gram-negatif *Bacteria*'nın sitoplazmik zarının dış yüzeyi ile lipopolisakkarit tabakanın iç yüzeyi arasında yer alan jel-benzeri kısım

Peritriş hücre yüzeyinin birçok yerinde kamçıların bulunması

Polar hücrenin bir ya da her iki kutbunda kamçı bulunması

Poli-β–hidroksibütirat (PHB) β–hidroksibütirat ya da başka bir β–alkanoik asit polimeri veya β–alkonoik asit karışımları içeren ve prokaryotik hücrelerde yaygın olarak bulunan depo maddesi

Protoplast hücre duvarı uzaklaştırılmış ve ozmotik olarak korunmuş hücre

S-tabakası bazı *Bacteria* ve *Archaea*'da bulunan ve protein ya da glikoproteinden oluşan en dıştaki hücre yüzeyi tabakası

Sitoplazmik zar hücre sitoplazmasını çevreden ayıran geçirgenlik bariyeri

Steroller ökaryotik ve az sayıda prokaryotik hücrenin sitoplazmik zarını güçlendiren hidrofobik heterosiklik halka yapısına sahip moleküller

I MİKROSKOBİ VE HÜCRE MORFOLOJİSİ

Bölüm 2'de prokaryotik ve ökaryotik hücre kavramlarını tanıdık. Bu bölümde prokaryotik hücre yapısını göreceğiz. Ökaryotik hücre yapısı ise Bölüm 14'de incelenecektir.

Bacteria, *Archaea* ve *Eukarya* hücreleri temel yapıları açısından bazı ortak özellikleri paylaşır. Evler gibi hücreler de, daha karmaşık yapılar oluşturmak üzere bir araya gelen yapı taşlarından kurulurlar. Monomerler makromolekülleri oluşturmada kullanılırlar. Makromoleküller ise belirli işlevleri gören yapıları -ribozomlar, zarlar, hücre duvarları gibi- oluştururlar. Bu makromoleküller büyük bir kimyasal çeşitliliğe sahip olmakla birlikte, bütün hücreler benzer mimari sorunlarla karşılaşır ve bunları benzer yollarla çözerler.

Bu bölüme mikroskobi konusu ile başlayacak ve sırasıyla hücre zarları ve duvarları, hücre yüzeyi yapıları, inklüzyonlar ve hareket konusunu inceliyeceğiz. Mikroskobi ile başlama nedenimiz, hücre yapısının sırlarının tarihsel olarak ilk kez misroskobi ile ortaya çıkarılmış olması ve bugün bile mikroskobinin mikrobiyolojinin en güçlü aracı olmayı sürdürmesidir.

4.1 Işık Mikroskobu

Mikroorganizmaların görüntülenebilmesi ya *ışık mikroskobu*nu ya da *elektron mikroskobu*nu gerektirir. Genel olarak ışık mikroskopları parçalanmamış haldeki hücreleri küçük büyütme ile incelemede kullanılırken, elektron mikroskoplar hücre içindeki yapıları ya da hücre yüzeyinin ayrıntılarını incelemede kullanılırlar.

Mikroskopların tümü hücre görüntüsünü büyütmek için mercekleri kullanır. Bununla birlikte, büyütmeye ek olarak **çözünürlük** yani birbirine yakın iki objenin tek tek ayırt edilme yeteneği de bir başka kavram olarak karşımıza çıkmaktadır. Büyütmenin sınırları sonsuz olabildiği halde, çözünürlük için bu mümkün değildir. Çözünürlük ışığın fiziksel özellikleri tarafından belirlenir. Dolayısıyla, bir mikroskop ile neyi görebileceğimizi belirleyen şey *büyütme* değil, *çözünürlük*tür.

Konumuza çözünürlük limitleri yaklaşık olarak 0.2μm [0.2 mikrometre ya da 200 nanometre (nm)] olan ışık mikroskobu ile başlıyoruz. Daha sonra inceleyeceğimiz elektron mikroskobunun çözünürlüğü ışık mikroskobunun çözünürlüğünden 1000 misli fazla olup, bu mikroskop ile tek tek molekülleri gözlemlemek mümkündür.

Birleşik Işık Mikroskobu

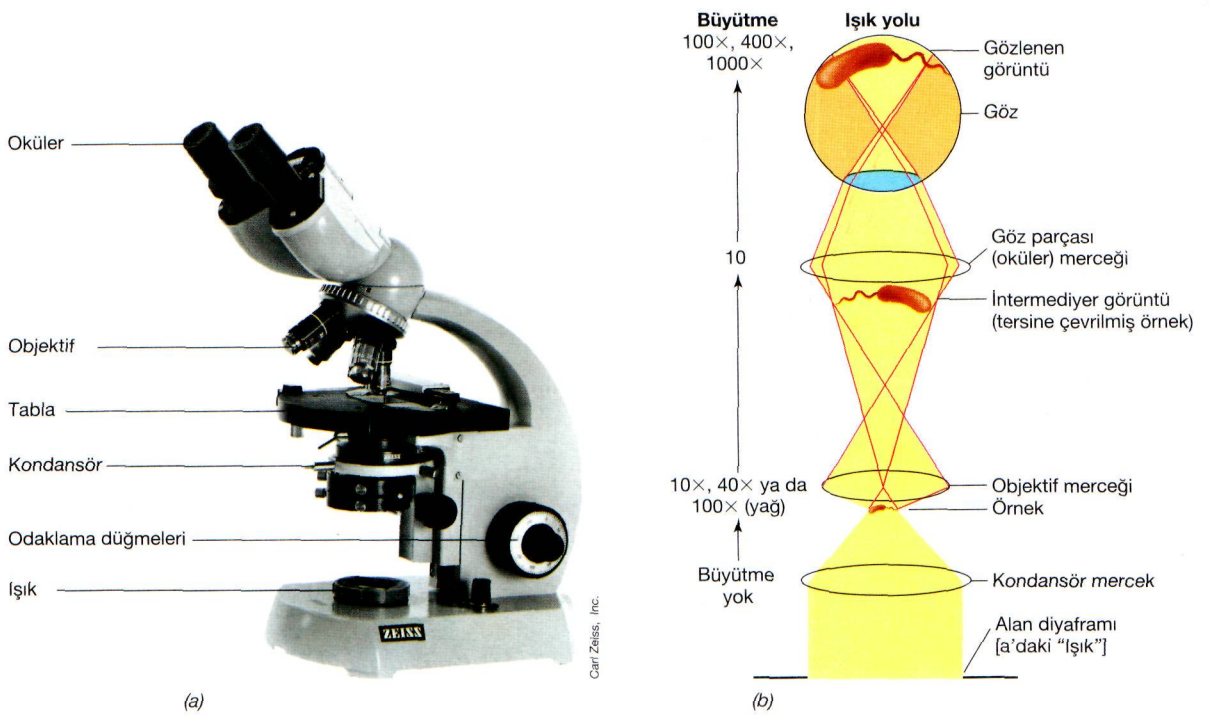
Işık mikroskobu hücre yapılarını incelemek için görünür ışığı kullanır. Mikrobiyolojide yaygın olarak kullanılan ışık mikroskopları *aydınlık-alan, faz-kontrast, karanlık-alan* ve *floresan* mikroskoplardır.

Aydınlık-alan mikroskobunda örneklerin görünür hale gelmesi, örnek ile çevre arasındaki kontrast (yoğunluk) farkı ile mümkün olur. Kontrast farklılıklarının oluşma nedeni, hücrelerin ışığı farklı derecelerde soğurması ya da yansıtmasıdır. Aydınlık-alan mikroskobu biyoloji ve mikrobiyolojinin laboratuvar derslerinde çok yaygın olarak kullanılır ve iki mercek serisi (objektif merceği ve oküler merceği) içerir (Şekil 4.1●). Birçok bakteri hücresi çevresi ile kontrast içinde olmadığı için, bunların aydınlık-alan mikroskobu ile incelenmesi güçtür. Pigmentli organizmalar bu açıdan bir ayrıcalık taşırlar; çünkü organizmanın rengi kontrastı artırır, böylece hücrelerin daha iyi görünmesi mümkün olur (Şekil 4.2●).

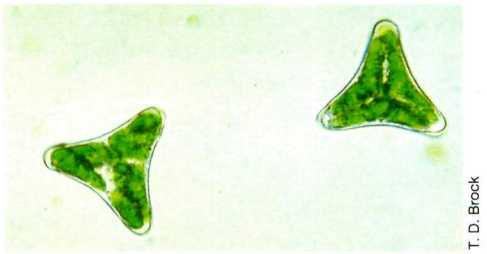
Büyütme ve Çözünürlük

Bir birleşik mikroskobun toplam büyütmesi, onun objektif ve oküler merceklerinin *ürünüdür* (Şekil 4.1*b*). Birleşik ışık mikroskobu ile elde edilebilecek büyütmelerin üst sınırı yaklaşık olarak 1500×'dir. Bu sınırın üzerinde iyi bir çözünürlük elde edilemez. Çözünürlük, kullanılan ışığın dalgaboyu ile objektif merceğinin *nümerik apertür* (ışığı toplayabilme yeteneğinin ölçüsü) adı verilen özelliğine bağlıdır. Genellikle bir merceğin büyütmesi ile nümerik apertürü arasında bir uygunluk vardır: Yüksek büyütmeye sahip merceklerin nümerik apertürleri de tipik olarak yüksektir (merceğin nümerik apertürü mercek üzerinde büyütme ile birlikte yazılmış durumdadır). Herhangi bir merceğin çözümleyebileceği en küçük objenin çapı 0.5 λ/nümerik apertür değerine eşittir. Bu eşitlikteki λ, kullanılan ışığın dalgaboyunu gösterir. Bu formüle göre, örneği aydınlatmak için *mavi ışık* kullanıldığı ve kullanılan objektifin nümerik apertürü *çok yüksek* olduğu zaman, çözünürlük de *çok yüksek* olacaktır.

Belirtildiği gibi, birleşik ışık mikroskobu ile elde edilebilecek en yüksek çözünürlük, yaklaşık olarak 0.2μm'dir. Bunun anlamı şudur: Eğer iki obje birbirlerine 0.2μm'den daha yakınsa, bunlar ayrı ayrı objeler olarak gözlemlenemez. Mikrobiyolojide kullanılan mikroskopların çoğu 10-15× büyütmeli okülerlere ve 10–100× büyütmeli objektiflere sahiptir (Şekil 4.1b). 1000× büyütmede 0.2μm çapındaki objeler çözümlenebilir. 100× büyütmeli objektif ve çok yüksek nümerik apertüre sahip diğer objektiflerle, örnek ile objektif arasına yüksek kaliteli bir optik yağ koyulur. Yağ ile birlikte kullanılan merceklere *yağ-immersiyon merceği* adı verilir. İmmersiyon yağı, merceğin ışık toplama yeteneğini artırır.



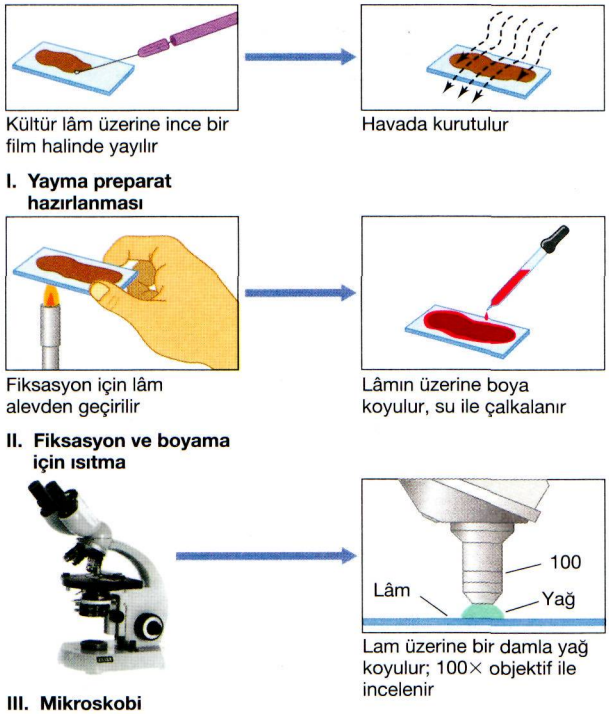
● **Şekil 4.1 Mikroskobi.** (a) Birleşik ışık mikroskobu. Önemli kısımlar şekil üzerinde belirtilmiştir. (b) Birleşik ışık mikroskobu içinde ışığın izlediği rota.



(a)

(b)

● **Şekil 4.2 Pigmentli mikroorganizmaların aydınlık-alan mikroskobu ile çekilmiş fotoğrafları.** (a) Yeşil alg (ökaryot). (b) Mor fototrofik bakteri (prokaryot). Alg hücrelerinin çapı 15 μm, bakteri hücrelerinin çapı yaklaşık 5μm'dir.



● **Şekil 4.3 Misroskobik gözlem için hücrelerin boyanması.** Boyama işlemi hücreler ile zemin arasındaki kontrastı artırır.

Boyama: Aydınlık-Alan Mikroskobisi İçin Kontrastın Artırılması

Aydınlık-alan mikroskobunun kısıtlamalarından biri, kontrastın yetersiz olmasıdır. Hücrelerin boyanması için çeşitli boyaların kullanılması, kontrastı artırarak onların aydınlık-alan mikroskobunda daha iyi görünmelerini sağlar. Boyalar organik bileşikler olup, her boya tipi özgül hücresel materyallere ilgi gösterir. Mikrobiyolojide kullanılan birçok boya pozitif yük taşır (*bazik boyalar*) ve nükleik asitler ya da asidik polisakkaritler gibi negatif yük taşıyan hücresel bileşenlerle birleşir. Bazik boyalar arasında *metilen mavisi*, *kristal viyole* ve *safranin* bulunur. Hücre yüzeylerinin negatif yük taşımasından ötürü bu boyalar hücre yüzeyindeki yapılara kolayca bağlanırlar. Bu nedenle bu gruptaki boyalar genel amaçlı kullanım için çok uygundurlar.

Bir **basit boyama** için, kurutularak hazırlanan hücre süspansiyonları kullanılır (Şekil 4.3●). Isı ile fikse edilmiş hücreleri içeren bir lâm 1-2 dakika süreyle seyreltik boya çözeltisi ile muamele edilir. Birkaç kez su ile çalkalanır ve kurutulur. Kurutulmuş ve boyanmış bakteri preparatları yüksek-büyütmeli (immersiyon) mercek ile incelenir (Şekil 4.3).

Gram Boyama

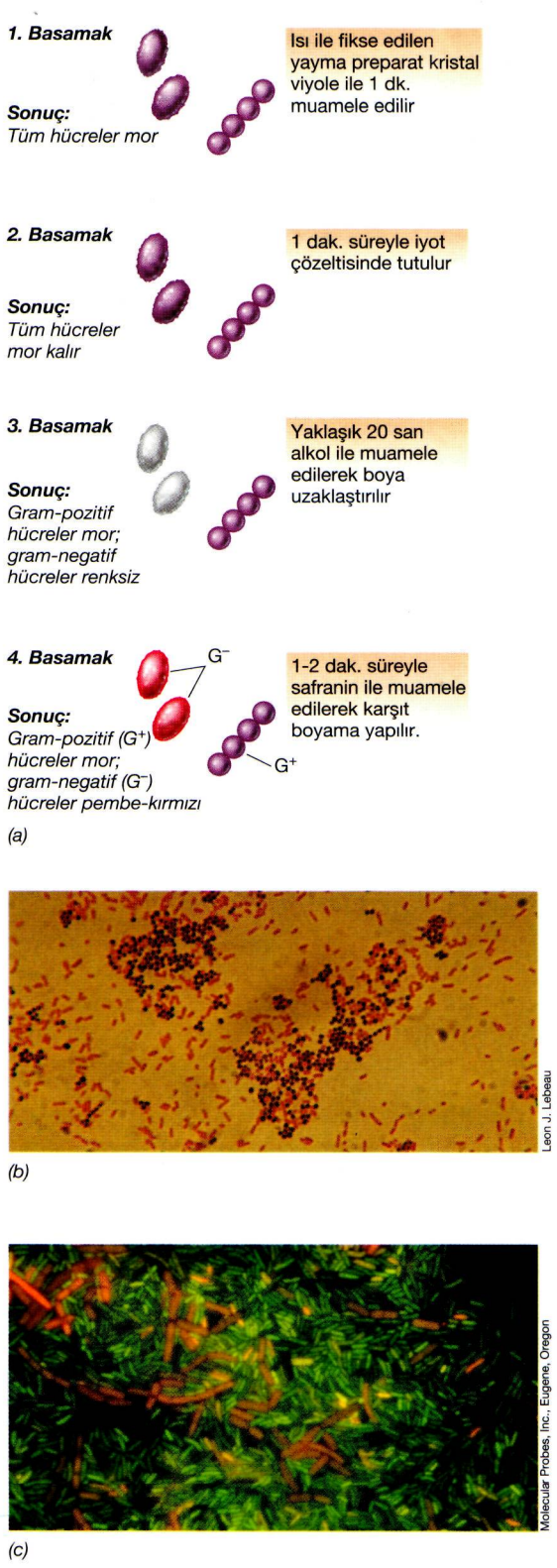
Bazı boyalar her tip hücreyi aynı renge boyamaz. Mikrobiyolojide çok yaygın olarak kullanılan **Gram-boyama** bu gruba girer (Şekil 4.4*a*●). Gram boyası ile verdikleri tepkimeye bağlı olarak, bakteriler iki büyük gruba ayrılır: *gram-pozitif* ve *gram-negatif*. Gram boyama sonucunda **gram-pozitif** bakteriler mor, **gram-negatif** bakteriler ise kırmızı görünürler (Şekil 4.4*b*). Gram boyası ile tepkimeye girmede görülen bu farklılık, gram-pozitif ve gram-negatif hücrelerin duvar yapılarındaki farklılıktan ileri gelir. Bu farklılık, etanolün gram-negatif bakterilerden boyayı uzaklaştırmasına, buna karşılık gram pozitif hücrelerde boyanın kalmasına yol açar (Şekil 4.4).

Gram boyası mikrobiyolojideki en kullanışlı boyama işlemlerinden biridir. Yeni bir bakterinin karakterizasyonu için yapılacak ilk işlem, onun gram-negatif mi, yoksa gram-pozitif mi olduğunu saptamaktır. Eğer bir floresan mikroskop varsa, Gram boyama tek basamaklı bir işleme indirgenebilir. Bu tip mikroskopta gram-pozitif ve gram-negatif hücreler farklı renklerde floresan verirler (Şekil 4.4c).

Faz-Kontrast, Karanlık-Alan ve Floresan Mikroskoplar

Faz-kontrast mikroskop hücrelerle, onları çevreleyen ortam arasındaki kontrast farklılıklarını artırmak için geliştirilmiştir. Böylece hücreleri boyamadan incelemek mümkün olur (Şekil 4.5●). Faz-kontrast mikroskop, araştırmalarda yaygın olarak kullanılır; çünkü bu mikroskop ile canlı preparatları incelemek mümkündür. Buna karşılık, ışık mikroskobisinde yaygın olarak kullanılan boyama, hücreleri öldürür ve onların özelliklerini bozar.

Web-Öğretim 4.1 The Gram Stain

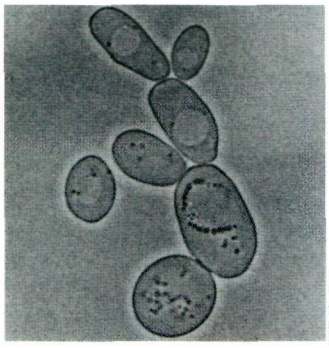


Faz-kontrast mikroskop Alman matematiksel fizikçisi Frits Zernike tarafından, 1936'da keşfedilmiştir. Bu mikroskobun dayandığı prensip, hücrelerin içlerinden geçen ışığın hızını yavaşlatması ve böylece çevreleri ile *refraktif indeks* açısından farklılaşmalarıdır. Bu durum hücre ile onun çevresi arasında "faz" farkı yaratır ve bu ince farklılık, faz-kontrast mikroskobun objektif merceğindeki özel bir halka ile artırılır. Bu yolla, aydınlık zemin üzerinde karanlık bir görüntü oluşur (Şekil 4.5b). Halkanın içerdiği ve Zernike'nin buluşu olan "faz plağı" fazdaki çok küçük değişkenliği büyütür. Zernike'nin hücreler ile bunların çevreleri arasındaki kontrast farklılıklarını keşfetmesi, mikroskobide daha sonra yapılacak yeniliklere öncülük etmiştir. Bu yenilikler arasında floresan ve konfokal mikroskoplar yer alır. Faz-kontrast mikroskobu bulması nedeniyle Zernike 1953 yalında Nobel Fizik Ödülü kazanmıştır.

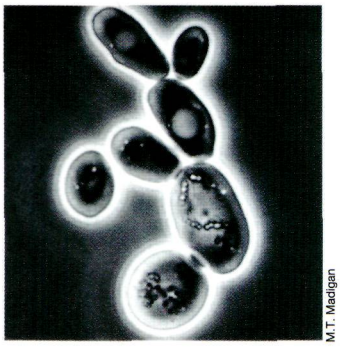
Karanlık-alan mikroskobu, ışık veren sistemi örneği sadece yanlardan aydınlatacak şekilde değişikliğe uğratılmış bir ışık mikroskobudur. Merceğe ulaşan ışık sadece örnek tarafından yansıtıldığı için, örnek karanlık zemin üzerinde aydınlık bir bölge olarak ortaya çıkar (Şekil 4.5c) Karanlık-alan mikroskobu ile elde edilen çözünürlük, ışık mikroskobu ile elde edilenden daha iyidir. Dolayısıyla, aydınlık-alan ve hatta faz-kontrast mikroskoplar ile elde edilemeyen çözünürlük, bu mikroskop ile elde edilebilir. Karanlık-alan mikroskobu ile mikroorganizmaların hareketi mükemmel şekilde incelenebilir; çünkü kamçı demetleri bu teknik ile görünür hale gelmektedir (Bkz. Şekil 4.55a).

Floresan mikroskop *floresan* örnekleri gözlemlemek için kullanılır. Floresan objeler, ışık ya da başka bir renk üstlerine yansıdığında ışıldarlar (Şekil 4.6●). Floresans ya hücrelerin doğal bileşikleri olan klorofil ya da diğer floresan moleküllerde bulunur (*otofloresans*) (Bkz. Şekil 4.6*a*, *b*), ya da hücrelerin floresan boya ile muamele edilmesi sonucunda ortaya çıkar (Şekil 4.4*c* ve 4.6*c*). DAPI (diamidino-2-fenilindol) hücreleri parlak maviye boyamak için yaygın olarak kullanılan bir floresan boyadır (Şekil 18.6). DAPI kullanılarak toprak, su, besin ya da klinik örnekler gibi kompleks ortamlardaki hücreler görüntülenebilir (Bölüm 18.3). Floresan mikroskop klinik mikrobiyoloji ve mikrobiyal ekolojide çok yaygın olarak kullanılır (Bölüm 18-20 ve 24).

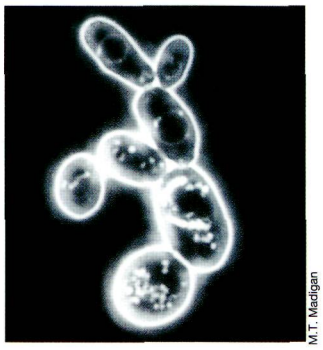
● **Şekil 4.4 Gram boyama.** (a) Gram boyama işleminin basamakları. (b) Gram boyama ile gram-pozitif (mavi-mor) ve gram-negatif (pembe-kırmızı) boyanmış *Bacteria*'nın fotomikrografı. Buradaki türler sırasıyla *Staphylococcus aureus* ve *Escherichia coli*'dir. (c) Tek basamaklı floresan boyama yöntemi ile boyanmış *Pseudomonas aeruginosa* (gram-negatif, yeşil) ve *Bacillus cereus* (gram-pozitif, turuncu) hücrelerinin fotomikrografı. Bu yöntem gram-pozitif ve gram-negatif hücrelerin tek basamakta ayırt edilmesini sağlar.



(a)



(b)



(c)

● **Şekil 4.5 Farklı tipte ışık mikroskopları ile aynı alanda fotoğrafları çekilmiş ekmek mayası *(Saccharomyces cerevisiae)* hücrelerinin fotomikrografları.** (a) Aydınlık-alan. (b) Faz-kontrast. (c) Karanlık-alan. Hücrelerin ortalama çapı 8-10 μm'dir.

4.1 *Kavramların Gözden Geçirilmesi*

Mikroskoplar mikrobiyolojik çalışmaların asal araçlarıdır. Aydınlık-alan, karanlık-alan, faz-kontrast ve floresan mikroskoplar gibi çeşitli mikroskoplar vardır. Aydınlık-alan mikroskobunda kontrastı artırmak için boyaların kullanılması zorunludur.

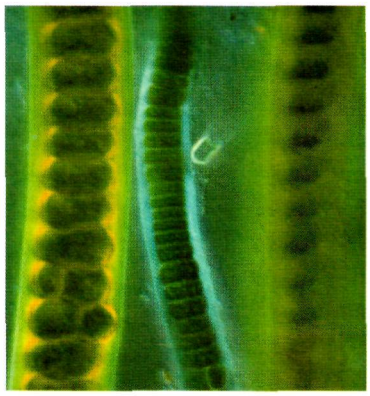
- *Çözünürlük* terimini tanımlayınız.
- Işık mikroskobu için büyütmenin üst sınırı nedir?
- Hangi ışık mikroskobi tekniği bazı durumlarda çözünürlüğü artırır?
- Gram-negatif bir bakteri Gram boyama tekniği ile boyandığında hangi renkte görünür?

4.2 Üç-boyutlu Görüntüleme: Interferens Kontrast, Atomik Güç ve Konfokal Taramalı Lazer Mikroskoplar

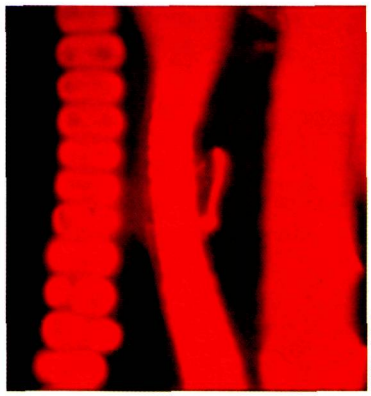
Buraya kadar sözü edilen ışık mikroskobu tipleri ile elde edilen görüntüler iki boyutludur. Bu sınırlamaya nasıl bir çözüm bulunabilir? Bundan sonraki kısımda taramalı elektron mikroskobun ve belirli ışık mikroskobu tiplerinin bu probleme getirdikleri çözümü göreceğiz.

Diferansiyel İnterferens Kontrast Mikroskop

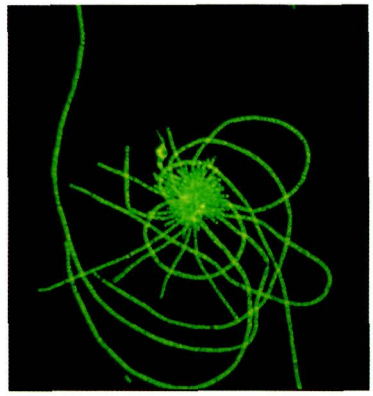
Diferansiyel interferens kontrast (differential interference contrast=DIC) mikroskop polarize ışık oluşturmak için polarizör kullanan bir tip ışık mikroskobudur. Bir prizmadan geçen polarize ışık iki ayrı ışık demeti oluşturur. Örnekten geçen bu ışık demetleri objektif merceğine girerek, burada tekrar



(a)



(b)



(c)

● **Şekil 4.6 Floresan mikroskop ile görüntülenmiş çeşitli mikroorganizmaların mikrografları.** (a, b) Siyanobakteriler. (a) Hücreler aydınlık-alan mikroskobu ile gözlenmiştir. (b) Aynı hücreler floresans ile gözlenmiştir (hücreler 546 nm ışığa maruz bırakılmıştır). Kırmızı renk, klorofil a ve diğer pigmentlerin otofloresansından kaynaklanmaktadır. (c) Floresan bir boya olan akridin oranj ile boyandığında yeşil floresan veren ve filamentöz bir bakteri olan *Leucothrix mucor* hücreleri. Bu hücrlerin çapı 3 μm olup, boyları 100 μm'den fazla olabilir.

tek demet haline gelirler. İki farklı demet refraktif indeksleri az çok farklı iki farklı bileşik içinden geçtiği için, tek bir demet halinde bir araya geldiklerinde, tamamen ayrı fazda titreşmezler; bunun yerine bir interferens etkisi oluştururlar. Bu etki, hücre yapısındaki küçük farklılıkları büyütür. Dolayısıyla, ökaryotik hücrelerdeki çekirdek gibi yapılar (Şekil 4.7*a*●) ya da prokaryotik hücrelerdeki endospor, vakuol ve granüller DIC mikroskobu ile üç boyutlu görünürler. DIC mikroskobu, boyanmamış hücreleri gözlemlemede de kullanılır; çünkü bu mikroskop aydınlık-alan teknikleri ile az görünen (ya da görünmeyen) hücre-içi yapıları gösterebilir (Şekil 4.5a ve 4.7a'yı karşılaştırınız).

Atomik Güç Mikroskobu

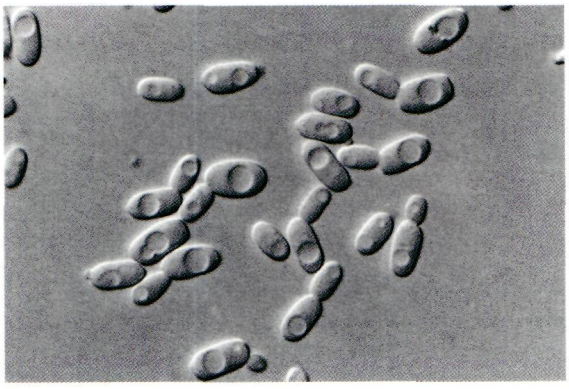
Biyolojik yapıları üç-boyutlu görüntülemek için kullanılan bir başka mikroskop **atomik güç mikroskobu (AFM)** dur. Atomik güç mikroskobisinde ince bir uzantı örneğe çok yaklaştırılır. Böylece prob ile örnek arasında zayıf atomik güçler oluşturulur. Örnek hem yatay, hem de dikey yönlerde tarandığı için, prob yüksek ve alçak kısımlarda aşağı ve yukarı inip çıkar. Böylece yüzey ile prob arasındaki etkileşimler sürekli olarak kaydedilir. Elde edilen şekil, bir seri dedektör tarafından işleme tabi tutulur. Bu dedektörler dijital bilgiyi bir bilgisayara aktarır. Görüntü bilgisayar tarafından oluşturulur (Şekil 4.7b).

Atomik güç mikroskobu ile elde edilen görüntüler, taramalı elektron mikroskop ile elde edilen görüntülere benzemekle birlikte, (Şekil 4.7*b* ile Şekil 4.10*b*'yi karşılaştırınız) AFM'nin bir üstünlüğü vardır. Bu mikroskop fiksatif ya da kaplama maddesi gerektirmez. Dolayısıyla, elektron mikroskopları ile incelenmesi mümkün olmayan su içeren canlı örnekler bu mikroskop ile incelenebilir.

Konfokal Taramalı Lazer Mikroskobu

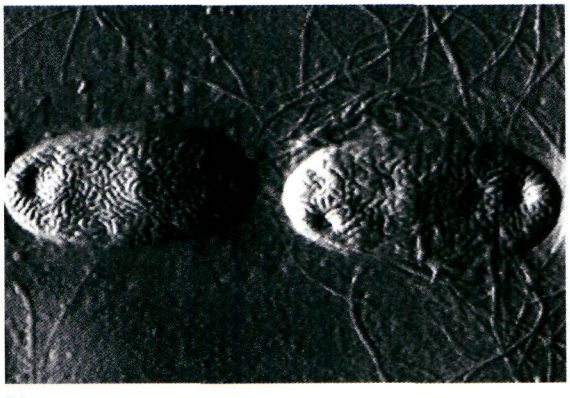
Konfokal taramalı lazer miroskobu (confocal scanning laser microscope=CSLM) bir lazer ışığı kaynağı ile ışık mikroskobunu bir araya getiren bilgisayarlı bir mikroskoptur. Bu teknik mikroorganizmaların ve diğer biyolojik örneklerin üç-boyutlu dijital görüntülerini elde etmeye olanak verir (Şekil 4.8●).

CSLM'de lazer ışını bir aynadan yansıtılarak, tarama aygıtına yönlendirilir. Daha sonra bu lazer ışığı, odak düzlemini örnek içindeki belirli bir dikey düzleme çok doğrulukla uyarlayacak olan çok ince bir deliğe yöneltilir. Işık sisteminin çok hassas bir şekilde ayarlanması ile, örneğin sadece bir düzlemi aydınlatılmış olur. Bu nedenle diğer odak düzlemlerinden yayılan ışık, en aza indirilmiş olur. Böylece, örneğin mikrobiyal film gibi (Şekil 4.8a) nispeten kalın bir örnekte, sadece biyofilmin yüzeyindeki hücreler değil, farklı tabakalardaki hücreler de lazer ışınının odak düzlemi ayarlanarak, gözlenebilir.



Linda Barnett and James Barnett

(a)



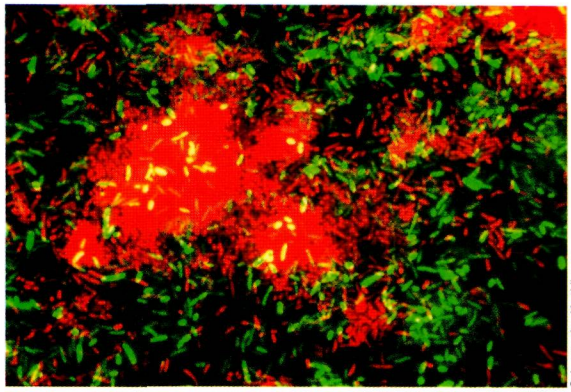
Suzanne Kelly

(b)

● **Şekil 4.7 Hücrelerin üç boyutlu görüntülenmesi.** (a) İnterferens kontrast mikroskobi ve (b) atomik güç mikroskobi. (a)'daki maya hücrelerinin çapı yaklaşık 8 μm'dir. Çekirdeğin açıkça görüldüğüne dikkat ediniz (Şekil 4.7 ile Şekil 4.5a'yı karşılaştırınız). (b)'deki bakteri hücrelerinin boyu yaklaşık 2.2 μm olup, bu mikrograf 24 saat süreyle bir köpeğin su kabına batırılmış cam lâmın yüzeyinde oluşan doğal biyofilme aittir. Lâm, atomik güç mikroskobunda incelenmeden önce havada kurutulmuştur.

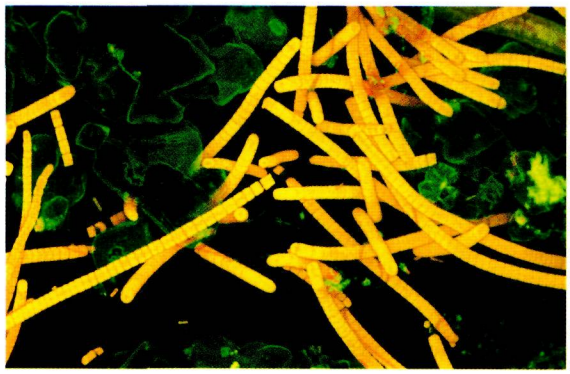
CSLM için hazırlanan preparatlar genellikle floresan boyalarla boyanır ve belirgin hale getirilir (Şekil 4.8a). Lazer konfokal mikroskop bilgisayar yazılımları ile donatılarak, dijital görüntülerin daha sonra işlenmesi sağlanmıştır. Böylece, farklı düzlemlere ait görüntüler dijital olarak üst üste getirilir ve tüm örneğin üç-boyutlu görüntüsü elde edilir (Şekil 4.8a).

CSLM mikrobiyal ekolojide geniş bir kullanım alanı bulmuştur. Bu teknikle mikrobiyal habitatta bulunan filogenetik olarak farklı hücre popülasyonlarını tanımlamak (Bkz. Şekil 18.11*b*) ya da bir biyofilmdeki farklı tabakaların bileşenlerini ayırt etmek mümkündür (Şekil 4.8*a*; Şekil 19.4*b*). Dolasıyla, CSLM mikrobiyal bileşimin derinliğe bağlı olarak nasıl değiştiğini gözlemlemek istediğinimiz kalın örnekler için kullanılabilir.



Subramanian Karthikeyan

(a)



Gernot Arp and Christian Boeker, Carl Zeiss, Jena

(b)

● **Şekil 4.8 Konfokal taramalı lazer mikroskobi.** (a) Laboratuvarda üretilen karışık mikrobiyal biyofilm komünitesinin konfokal görüntüsü. Çubuk şeklindeki yeşil hücreler biyofilme deneysel olarak eklenen *Pseudomonas aeruginosa*'dır. Farklı renklere sahip diğer hücreler, biyofilmin farklı derinliklerinde bulunmaktadır. (b) Sodalı gölge yetişen filamentöz bir siyanobakterinin konfokal mikrografı.

4.2 Kavramların Gözden Geçirilmesi

İnterferens kontrast (DIC) ve konfokal taramalı (CSLM) mikroskoplar diğer ışık mikroskobu tiplerinden daha iyi üç-boyutlu görüntü elde etmeye izin veren ışık mikroskobu tipleridir. Konfokal mikroskop, kalınlığı fazla olan örnekler için kullanışlıdır. Atomik güç mikroskobu canlı preparatların üç boyutlu görüntülerini ayrıntıları ile ortaya çıkarır.

- Aydınlık-alan mikroskobu yerine DIC kullanılması ile ökaryotik hücrelerdeki hangi yapı daha kolay gözlemlenebilir? (İpucu: Şekil 4.5*a* ile 4.7*a*'yı karşılaştırınız).
- CSLM kalın bir preparattaki farklı tabakaları nasıl görüntülemektedir?

4.3 Elektron Mikroskop

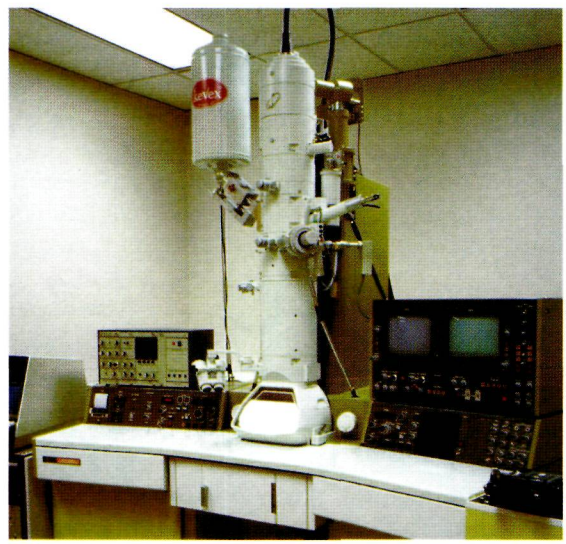
Elektron mikroskoplar hücreleri ve hücresel yapıları görünür hale getirmek için, fotonları değil elektronları kullanır. **Transmisyon elektron mikroskop**taki (**TEM**) elektromıknatıslar mercekler gibi iş görür ve sistemin bütünü vakumda çalışır (Şekil 4.9●). Elektron mikroskoplara monte edilen kameralar fotoğraf çekmeye olanak verir. Bu fotoğraflar *elektron mikrograf* olarak adlandırılır.

Transmisyon elektron mikroskop özellikle hücre-içi yapıların incelenmesinde kullanılır. Elektron mikroskobun çözünürlük gücü ışık mikroskobundan çok daha büyük olup, molekül düzeyindeki yapıların incelenmesine olanak verir (Şekil 2.4*b*). Örneğin iyi bir ışık mikroskobunun çözünürlük gücü 0.2 *mikrometre* iken, iyi bir TEM'in çözünürlük gücü yaklaşık 0.2 *nanometre*'dir. Dolayısıyla, protein ve nükleik asit moleküllerini elektron mikroskop ile gözlemlemek mümkündür.

Görünür ışığın aksine, elektron demetleri bir objenin içinden kolayca geçemez; tek bir hücre bile bu yolla incelenmek için çok kalındır. Sonuç olarak, elektron mikroskop için örnek hazırlarken, özel *ince kesit alma* teknikleri kullanılır. Örneğin tek bir bakteri hücresi çok ince (20-60nm) dilimlere kesilir ve bu dilimler tek tek elektron mikroskopta incelenir (Şekil 4.10*a*●). Yeterli kontrastın elde edilebilmesi için, preparatlar ya osmik asit ya da permanganat, uranyum, lanthan ya da kurşun tuzları gibi boyalarla muamele edilirler. Bu gibi bileşikler ağır atomlardan oluştukları için, elektronları iyi dağıtır ve böylece kontrastı artırırlar (Şekil 4.10a).

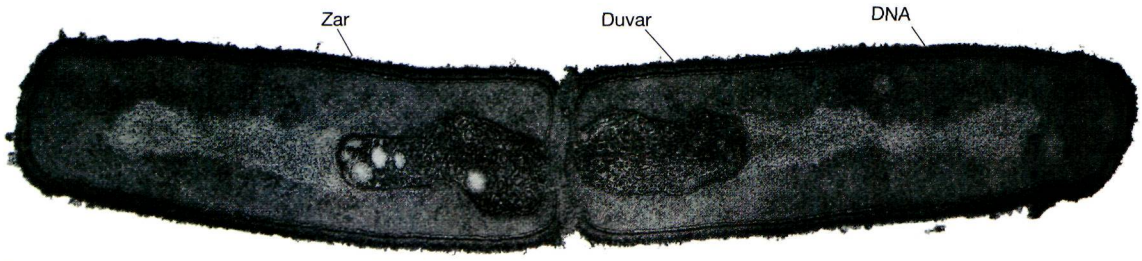
Taramalı Elektron Mikroskop (Scanning Electron Microscope=SEM)

Eğer bir organizmanın sadece *dış* özellikleri incelenecekse, bu durumda ince kesitler alınması gerekmez. Parçalanmamış hücreler ya da hücresel yapılar, *negatif boyama* (Bkz. örneğin Şekil 4.54) adı verilen bir teknikle doğrudan doğruya TEM ile incelenebilir. Bir başka seçenek **taramalı elektron mikroskobun (SEM)** kullanılmasıdır (Şekil 4.9 ve 4.10*b*).



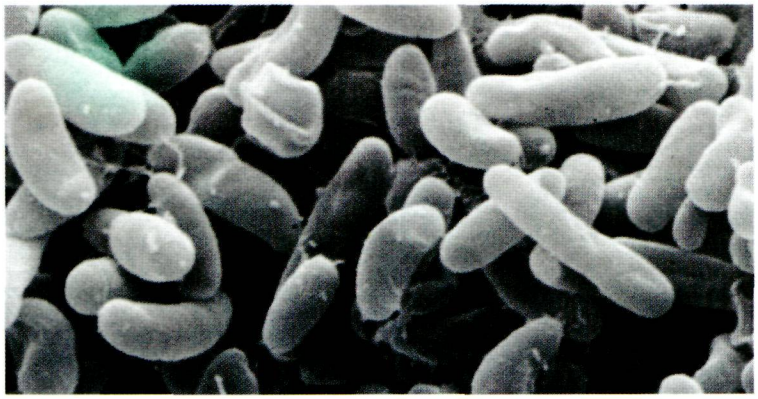
JEOL USA Inc.

● **Şekil 4.9 Elektron mikroskop.** Burada görülen alet hem transmisyon hem de tarama işlevlerini yerine getirmektedir.



Stanley C. Holt

(a)



F. R. Turner

(b)

● **Şekil 4.10 Bakteriyal hücrelerin elektron mikrografları.** (a) Transmisyon elektron mikrograf ve (b) taramalı elektron mikrograf. (a) Tipik bir gram-pozitif bakteri olan *Bacillus subtilis*'in ince kesiti. Hücre yeni bölünmüş olup, çift katlı zar çapraz-duvara tutunmuştur. Ortadaki açık renkli kısma dikkat ediniz (DNA ya da nükleoid). Bu hücrenin çapı yaklaşık 0.8 μm'dir. (b) Fototrofik bir bakteri olan *Rhodovibrio sodomensis* hücreleri. Tek bir hücrenin genişliği yaklaşık 0.75 μm'dir. Taramalı mikrografın büyük bir alan derinliği sağladığına ve mükemmel üç-boyutlu görüntü verdiğine dikkat ediniz.

Taramalı elektron mikroskopta incelenecek örnek altın gibi ağır bir metal ile ince bir tabaka halinde kaplanır. SEM'den gelen elektron demeti örnek üzerine yönlendirilir ve bu demet örneği tarar. Metalden dağılan elektronlar toplanır ve görüntü oluşturacak şekilde ekranı aktive eder (Şekil 4.10b). Bu mikroskobun alan derinliği çok iyi olduğu için, oldukça büyük örneklerin incelenmesine olanak verir. SEM ile 15×'den 100.000×'e kadar değişen oranlarda büyütme sağlanabilir; ancak incelenen objenin sadece *yüzeyi* gözlemlenebilir.

4.3 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Elektron mikroskoplarının çözünürlük güçleri ışık mikroskoplarına oranla çok büyük olup, çözünürlük sınırları yaklaşık olarak 0.2nm'dir. İki temel elektron mikroskobu vardır. Transmisyon elektron mikroskop hücre-içi yapıların molekül düzeyine kadar ayrıntısını gözlemlemek için kullanılırken, taramalı elektron mikroskop üç-boyutlu görüntü elde etmek ve yüzeyleri incelemek için kullanışlıdır.

- *Elektron mikrograf* nedir? Görüntü elde etmek açısından düşünüldüğünde, elektron mikrograf ile fotomikrograf arasında ne fark vardır?
- Kimyasal fiksatif gereksinimi ve elektron mikroskopların vakumda çalışmaları göz önünde tutulduğunda, elektron mikroskopların ışık mikroskoplarına göre hangi temel *dezavantaja* sahip olduklarını söyleyebiliriz?
- Bakteriyal nükleoidi incelemek için hangi elektron mikroskop tipini kullanırsınız?

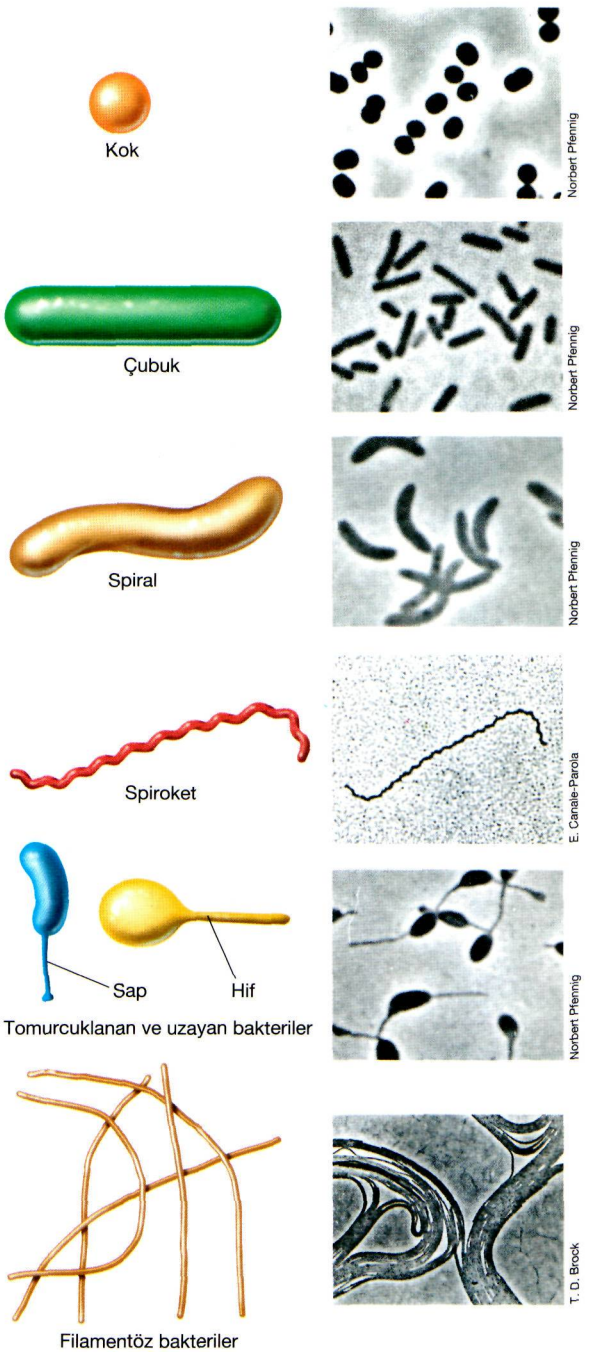
4.4 Hücre Morfolojisi ve Küçük Olmanın Önemi

Biyolojide kullanılan **morfoloji** terimi hücrenin *biçimini* ifade eder. Prokaryotlar çeşitli morfolojilere sahip olup, bu biçimler onları tanımlayıcı niteliktedir. Burada morfolojinin ne olduğunu öğrenecek ve küçük hücrelerin biyolojik olarak ne gibi avantajlara sahip olduklarını göreceğiz.

Temel Hücre Morfolojileri

Şekil 4.11●'de tipik bakteri biçimleri, örnek mikroorganizmaların faz fotomikrografları ile birlikte görülmektedir. Küresel ya da yumurta biçiminde morfolojiye sahip bir bakteriye **kok** (çoğulu, cocci) adı verilir. Silindirik şekilli bakteri ise **çubuk** olarak adlandırılır. Helezon şeklinde kıvrılmış çubuklara **spiral** adı verilir. Prokaryotların birçoğu bölündükten sonra, gruplar ya da salkımlar halinde kalırlar. Bu grupların düzenlenişi farklı organizmaların tipik bir özelliğidir. Örneğin, kok ve çubuklar uzun zincirler şeklinde dizilebilirler. Bazı koklar hücre plakaları oluştururken, diğerleri üç-boyutlu kilsiz ya da şekilsiz birliktelikler kurarlar.

Bazı bakteri grupları, sahip oldukları alışılmadık biçimler nedeniyle kolayca fark edilirler. Örneğin **spiroketler** çok sıkı bir biçimde kıvrım oluşturmuş bakterilerdir. Bazı **bakteriler** uzun tüp şeklinde **uzantılara** sahiptir. **Filamentöz bakteriler** ise uzun, ince hücreler ya da hücre zincirleri oluş-

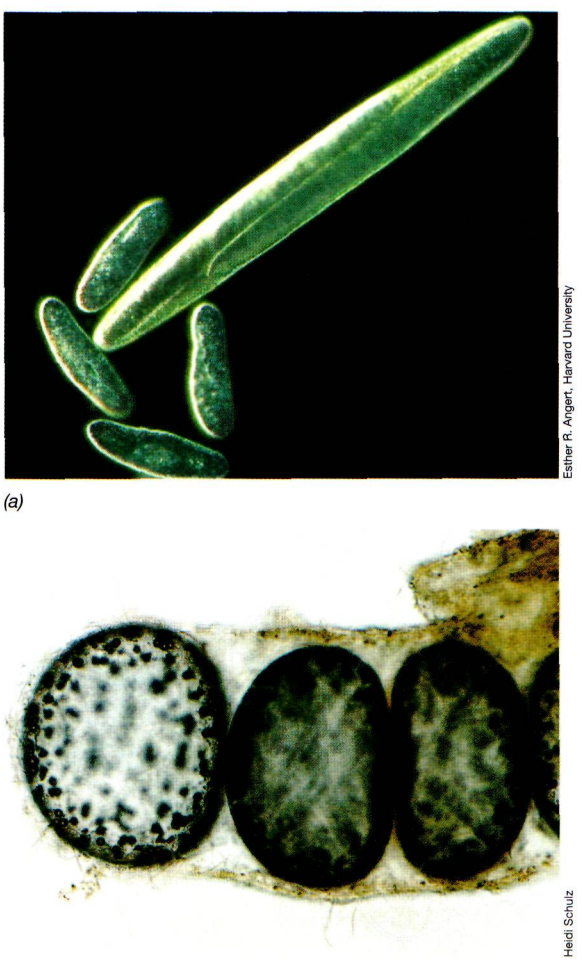


● **Şekil 4.11 Prokaryotlarda görülen hücre biçimleri (morfoloji).** Her çizimin yanında o morfolojiye ait bir örnek görülmektedir. Örnek olarak verilen organizmalar şunlardır: Kok, *Thiocapsa roseopersicina* (hücre çapı = 15μm); çubuk, *Desulfuromonas acetoxidans* (çap = 1μm); spiral, *Rhodospirillum rubrum* (çap = 1μm); spiroket, *Spirochaeta stenostrepta* (çap = 0.25μm); tomurcuklanan ve uzayan, *Rhodomicrobium vannielii* (çap = 1.2μm); filamentöz, *Chloroflexus aurantiacus* (çap = 0.8μm)

tururlar (Şekil 4.11). Şekil 4.11'de görülen hücre birimlerinin *temsil* niteliğinde morfolojiler olduğu akıldan çıkarılmamalıdır. Mikrobiyal dünyada bu temel morfoloji tiplerinde az ya da çok büyük değişikliğe uğramış örnekler bulunur.

Mikrobiyal Hücrelerin Boyutları ve Küçük Olmanın Önemi

Prokaryotik hücrelerin çapları 0.2μm'den küçük olabildiği gibi, 50μm'den büyük de olabilir. Cerrahbalığı ile simbiyotik ilişki içinde olan *Epulopiscium fishelsoni* (Şekil 4.12*a*●) gibi çok büyük prokaryotların çapı 80μm, uzunluğu ise 0.6mm olabilir (Tablo 4.1). Toplam hücre hacmi açısından,



● **Şekil 4.12 Çok büyük prokaryolar.** (a) Cerrahbalığı üzerinde simbiyoz olarak yaşayan ve dev bir prokaryot olan *Epulopiscium fishelsoni*'nin karanlık-alan mikrografı. Bu alanda görülen çubuk-şekilli *E. fishelsoni* yaklaşık 600 μm (0.6 mm) uzunluğunda ve 75 μm eninde olup, her biri 150 μm uzunluğunda dört *Paramecium* (ökaryotik protozoan) hücresi ile bir arada bulunmaktadır. *E. fishelsoni Bacteria* grubunun üyesi olup, filogenetik olarak *Clostridium* türleri ile akrabadır. (b) Bilinen en büyük prokaryot olan *Thiomargarita namibiensis* kükürt kemolitotrofudur (*Bacteria*'nın Protoeobacteria şubesine dahildir). Kok-şekilli tek bir *T. namibiensis* hücresi yaklaşık 400μm genişliğindedir. Bazı küçük ve büyük prokaryotlar için Tablo 4.1'e bakınız.

bilinen en büyük prokaryot kükürt kemolitotrofu olan *Thiomargarita*'dır (Şekil 4.12b). Çapı 0.75 mm (750μm) olan bu organizma neredeyse çıplak gözle görülebilecek büyüklüktedir.

Prokaryotik hücrelerin boyutları ve hacimleri büyük ölçüde değişiklik gösterir (Tablo 4.1). Çok büyük prokaryotların çoğunluğu ya kükürt kemolitotrofları ya da siyanobakterilerdir (Bölüm 2 ve Tablo 4.1). Kükürt bakterilerinin büyük hücre boyutlarının çok miktarda substrat depolama mekanizması olabileceği düşünülmekle birlikte, diğerlerinin neden çok büyük oldukları anlaşılamamıştır. Difüzyon ve metabolizmadaki sınırlamaların, prokaryotik hücre boyutlarının üst sınırını belirlediği düşünülmektedir. Bir hücrenin metabolik hızı, onun büyüklüğünün karesi ile ters orantılı olarak değişir. Dolayısıyla, çok büyük bir hücrede difüzyon olayı metabolizmayı kısıtlayabilir. Böyle bir hücrenin daha uzun süre rekabet edebilmesi mümkün değildir.

Prokaryotik dünyada çok büyük hücreler bulunmaz. *Thiomargarita* ve *Epulopiscium*'un (Şekil 4.12) aksine, ortalama büyüklükte, çabuk şeklinde bir bakteri olan *Escherichia coli*'nin boyutları 1×3μm olup, bu ölçüler prokaryotların çoğunluğu için geçerlidir. Ökaryotik hücrelerin çapı ise 2μm ile 200μm arasında olabilir. O halde genel olarak şunu söyleyebiliriz: prokaryotlar ökaryotlara göre çok küçüktürler.

Birçok prokaryotun çok küçük olmasının en muhtemel nedeni, küçük olmanın bazı önemli avantajları olmasıdır. Örneğin, besin maddeleri ve atık ürünler küçük hücerelerde büyük hücrelere göre içeri ve dışarı doğru daha hızlı geçerler. Böylece hücre metabolizması ve büyüme hızlanmış olur. Küçük hücrelerin *yüzey alanı*nın hücre hacmine oranı, büyük hücrelerden daha fazladır. Bir kübün *hacmi* yarıçapın kübünün fonksiyonu ($V = 4/3\pi r^3$) iken, *yüzey alanı* yarıçapın karesinin fonksiyonudur ($S = 4\pi r^2$). Dolayısıyla, kübün yüzey/hacim (S/V) oranı 3/r olarak ifade edilebilir (Şekil 4.13•). O halde r değeri daha küçük olan bir hücrenin S/V oranı, r değeri büyük olan bir hücrenin S/V oranından daha *büyük* olacaktır.

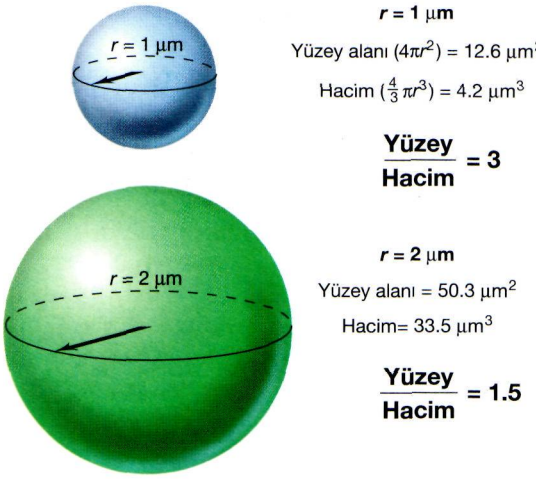
S/V oranı besin alışverişinin yanı sıra, , hücrenin diğer biyolojik yönlerini de etkiler. Örneğin, gelişme hızı bir ölçüye kadar besin alışverişine bağlı olduğu için, küçük hücrelerin S/V oranının büyük olması, bunların daha hızlı büyümelerini mümkün kılar. Bunun da ötesinde, kullanılabilir kaynakların her birimi başına, küçük hücrelerin oluşturacağı popülasyonlar, büyük hücrelerin oluşturacaklarından daha büyük olacaktır. Bütün

Tablo 4.1 Prokaryotik hücrelerin büyüklüğü ve hacmi (en büyükten en küçüğe doğru)

Organizma	Özellikleri	Büyüklük[a] (μm)	Hücre hacmi (μm^3)
Thiomargarita namibiensis	Küresel kükürt kemolitotrofu	750	200,000,000
Epulopiscium fishelsoni	Kemoorganotrofik bakteri	80 × 600	3,000,000
Beggiatoa sp.	Filamentöz kükürt kemolitotrofu	50 × 160	1,000,000
Achromatium oxaliferum	Oval kükürt bakterisi	35 × 95	80,000
Lyngbya majuscula	Filamentöz siyanobakteri	8 × 80	40,000
Prochloron sp.	Proklorofit	30	14,000
Thiovulum majus	Küresel kükürt kemolitotrofu	18	3,000
Staphylothermus marinus	Hipertermofil	15	1,800
Titanospirillum velox	Çubuk,şekilli kükürt kemolitotrofu	5 × 30	600
Magnetobacterium bavaricum	Magnetotaktik bakteri	2 × 10	30
Escherichia coli	Kemoorganotrofik bakteri	1 × 2	2
Mycoplasma pneumoniae	Fotogenik bakteri	0.2	0.005

[a]Tek bir rakam olarak verilen değerler, küresel hücrelerin çapını göstermektedir. Tablodaki değerler, her türde gözlenen en büyük hücre boyutlarını temsil etmektedir. Örneğin, *T. namibiensis* için ortalama hücre çapı 200 μm'dir. Ancak bazı hallerde 750 μm çapında dev hücreler de gözlenebilir. Benzer şekilde, *S. marinus* hücresinin ortalama çapı 1μm'dir.

Kaynak: Schulz, H.N., and B.B. Jørgensen. 2001. *Ann. Rev. Microbiol.* 55: 105–137.



● **Şekil 4.13 Hücrelerde yüzey alanı ile hacim arasındaki bağıntı.** Hücrenin boyutu arttıkça yüzey alanı/hacim oranı azalır.

organizmaların mutasyon hızları aynı olduğu için, büyük hücre popülasyonlarında daha fazla hücre bölünmesi olacak, bu da DNA replikasyonundaki kendiliğinden mutasyonların daha faza olmasına yol açacaktır. Mutasyonlar evrimsel değişikliği yürüten "hammadde"dir. Bu olguyu prokaryotların genetiksel olarak haploit oldukları (Kısım 2.2) gerçeği ile birlikte düşündüğümüzde, prokaryotların küçük boyutlu olmaları, bu organizmaların değişen ortam koşullarına hızla adapte olmalarının ve kolayca yeni habitatlara yerleşmelerinin nedenini açıklamaktadır.

Hücre Boyutunun Alt Sınırları

Yukarıdaki düşüncelerden yola çıkarak, daha küçük boyutlu bakterilerin doğada daha büyük seçici avantaja sahip olacakları sonucuna varabiliriz. Ancak, hücre büyüklüğünün bir alt sınırı vardır. Bazı mikrobiyologlar doğada *çok* küçük bakterilerin var olduğunu ileri sürmekte ve bunlara *nanobakteriler* denilmektedir. Var-oldukları farz edilen nanobakterilerin kok biçimli olanları 0.1μm çapa sahiptir. Bu ölçü prokaryotik standartlara göre bile çok küçüktür (Tablo 4.1). Nanobakteriler gerçek hücreler midir?

Nanobakterilere ilişkin birçok rapor, bunların mineral yüzeylerinden insan dokularına kadar değişen farklı ortamlarda çökelti ve biyofilmler (Kısım 19.3) oluşturduklarını varsaymaktadır. Bazı mikrobiyologlar nanobakteri kavramına kuvvetle inanmakta, bazıları ise nanobakterilerin cansız materyallerin kimyasal ya da jeokimyasal tepkimeleri sonucunda ortaya çıkmış basit oluşumlar olduklarını ve bilinen en küçük bakteriyal hücrelerin bile rapor edilen nanobakterilerden çok daha büyük olduklarını ileri sürmektedirler (Tablo 4.1). Canlılık için zorunlu olan tüm biyomolekülleri barındırmaya yetecek mekânın boyutları düşünüldüğünde, bunların 0.1μm ya da daha küçük hacimli bir yapıya sığmaları çok olası görünmemektedir. Dolayısıyla, nanobakterilerin canlı organizmalar olup olmadıkları sorusu yanıtsız kalmaktadır. Eğer bu kadar küçük hücreler gerçekten mevcutsa, bunlar bilinen en küçük canlı yapılar olacaktır.

Nanobakterilerin statüsü ne olursa olsun, birçok mikrobiyal habitat çok küçük hücreleri içerir. Örneğin, açık denizlerin her mililitresinde bulunan prokaryotik hücre sayısı 10^4–10^5dir. Çok küçük olan bu hücrelerin çapı 0.2–0.4μm'dir. Birçok patojenik bakteri de oldukça küçük boyutludur. Dolayısıyla doğada çok küçük hücreler bulunur, ancak 0.2'μm'den daha küçük yapılar, canlı hücreler (üreme yeteneğine sahip) olmayabilir.

4.4 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Prokaryotlar ökaryotlardan daha küçük boyutlu olup, çok farklı morfolojilere sahiptirler. Prokaryotik hücrelerin küçük boyutlu olmaları onların fizyolojisini, büyüme hızını ve ekolojisini etkiler. Boyutları 0.2μm'den daha küçük olan hücre benzeri yapılar, canlı organizma olabilir ya da olmayabilirler.

- Prokaryotlardaki üç tip morfolojiyi listeleyiniz.
- Hücrelerin daha küçük boyutlu olmaları onların hangi fiziksel özelliğini *artırır*?

II HÜRCE ZARLARI VE HÜCRE DUVARLARI

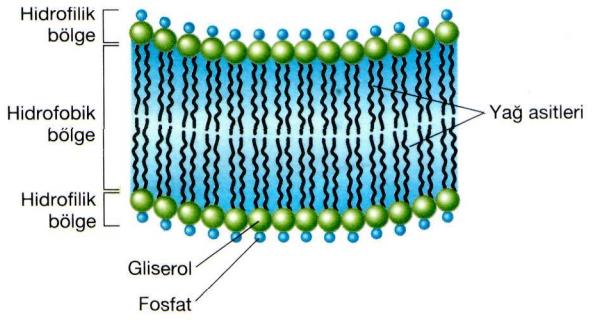
Şimdi prokaryotlar açısından çok önemli iki yapıyı gözden geçireceğiz: sitoplazmik zar ve hücre duvarı. Bu iki yapı da besinlerin taşınması (zar) ve ozmotik erimenin önlenmesi (duvar) dahil, iyi tanımlanmış kritik işlevleri yerine getirir.

4.5 Sitoplazmik Zar: Yapı

Sitoplazmik zar hücreyi çevreleyen ince yapıdır. Sadece 8nm kalınlığında olan bu hayati yapı, hücrenin içini (sitoplazma) çevreden ayıran bir sınır oluşturur. Eğer zar hasar görürse, hücrenin bütünlüğü bozulur, sitoplazma çevreye sızar ve hücre ölür. Sitoplazmik zar aynı zamanda *yüksek seçici geçirgenliğe* sahip bir engeldir. Bu özellik sayesinde özgül metabolitler hücre içinde konsantre edilir, atık maddeler ise hücre dışına aktarılır.

Zarların Kimyasal Bileşimi

Biyolojik zarların genel yapısı **çift tabakalı fosfolipid**'dir (Şekil 4.14●). Kısım 3.4'de belirtildiği gibi, fosfolipidler hem hidrofobik (yağ asidi) hem de hidrofilik (gliserolfosfat) bileşenler içerir ve gliserol omurgasına eklenmiş grupların çeşidine bağlı olarak, farklı kimyasal formlarda bulunur-



● **Şekil 4.14 Çift katlı fosfolipid yapısı.** Sitoplazmik zarın kalınlığı yaklaşık 8 nm(80Å) dir. Fosfolipid yapısı için Şekil 3.7'ye bakınız.

lar. Fosfolipidler sıvı çözelti içinde bir araya gelir ve kendiliğinden çift tabakalı yapılar oluştururlar. Bir fosfolipidde, yağ asitleri hidrofobik bir ortam oluşturacak şekilde birbirlerine doğru yönelirken, hidrofilik kısımlar sulu dış ortam ile temas halindedir (Şekil 4.14). Zarların çift tabakalı karakteri, sulu ortamdaki lipid moleküllerinin en kararlı düzenlenişini temsil eder.

Sitoplazmik zarın ince kısımları elektron mikroskop ile görülebilir (Şekil 4.15*a*●). Bu görüntülerde sitoplazmik zar karanlık bir bölge ile birbirinden ayrılmış açık renkli iki çizgi halinde görülür (Şekil 4.15*a*). **Birim zar** adı verilen (çünkü her fosfolipid yaprağı "birim"in bir yarısını oluşturur) bu yapı çift tabakalı fosfolipid (Şekil 3.7) ile, bunun içine gömülü haldeki proteinlerden oluşur (Şekil 4.16●). Sitoplazmik zarda yer alan temel proteinlerin zarın içinden geçen kısımları çok hidrofobik özellikte iken, dış ortama ve sitoplazmaya bakan yüzeyleri hidrofilik karakterdedir (Şekil 4.16). Sitoplazmik zarın tüm yapısı hidrojen bağları ve hidrofobik etkileşimlerle kararlı halde tutulur (Kısım 3.1). Bunlara ek olarak, Mg^{+2} ve Ca^{+2} gibi katyonlar fosfolipidlerin negatif yükleri ile iyonik olarak birleşerek, zarın kararlı olmasına yardım ederler.

Zar Proteinleri

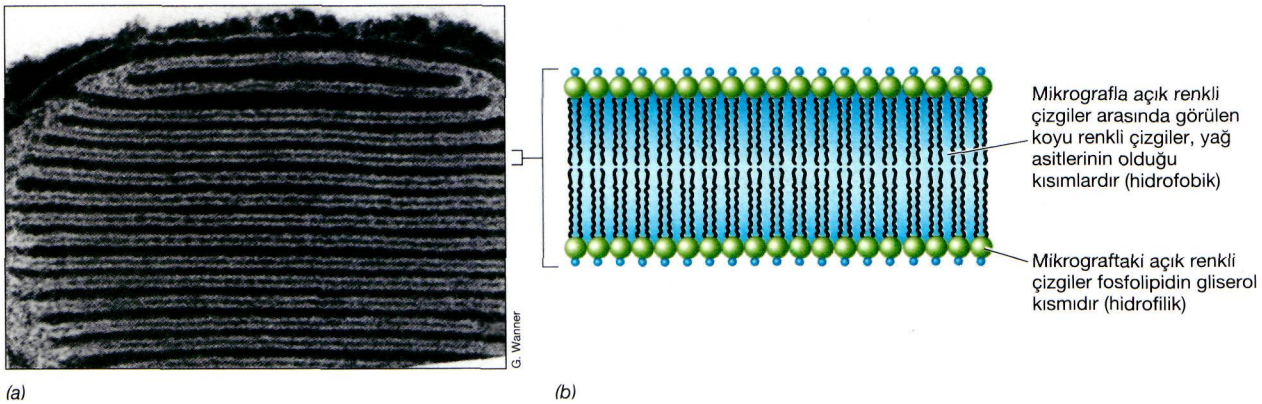
Sitoplazmik zarın dış yüzeyi çevre ile temas halindedir ve bazı bakterilerde substratlara bağlanan ya da büyük moleküllerin hücre içine aktarımını sağlayan çeşitli proteinlerle (periplazmik proteinler, Bkz. Bölüm 4.7 ve 4.9) ilişki kurar. Sitoplazmik zarın iç yüzeyi ise sitoplazma tarafına bakar ve enerji-veren tepkimelerde ya da diğer önemli hücresel işlevlerde görev alan proteinler ile etkileşir.

Birçok zar proteini zar içine gömülü halde olup, bunlara *integral zar proteinleri* adı verilir. Diğer proteinler ise zara gömülü olmayıp, zarın iki yüzeyinden birine bağlıdır ve zara-bağlı proteinler olarak işlev görürler. Bu proteinler arasında periplazmik (sitoplazmik zar ile gram-negatif bakterilerin dış zarı arasındaki bölge, Bkz. Kısım 4.9) ve bazı sitoplazmik proteinler vardır. *Periferal zar proteinleri* adı verilen bu proteinlerin bazıları lipoprotein grubundadır. Bu proteinlerin amino terminalinde lipid yapısında bir kuyruk vardır. Kuyruk kısmı proteinin zara tutunmasını sağlar. Bu proteinler, integral zar proteinleri ile enerji metabolizması gibi önemli hücresel süreçlerde doğrudan etkileşirler.

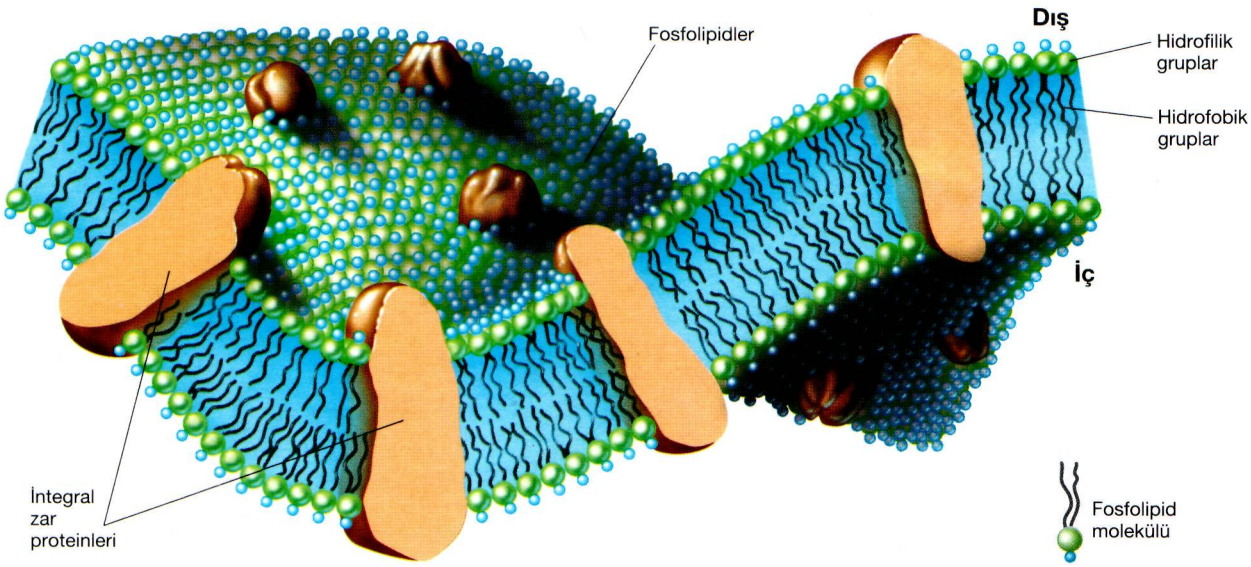
Şematik çizimlerde sitoplazmik zar katı bir yapı gibi görünmekle birlikte, aslında oldukça akışkandır (Şekil 4.15 ve 4.16). Fosfolipid ve protein molekülleri zar içinde önemli ölçüde hareket serbestisine sahiptirler. Zarların akışkanlığı inceltilmiş yağın akışkanlığına yakındır. Dolayısıyla, integral zar proteinleri, oldukça hareketli ama aynı zamanda oldukça düzenli olan çift katkı fosfolipid tabakasını kat edebilirler. Bir sonraki bölümde *sıvı mozaik* haldeki bu yapının zarın işlevini nasıl yönlendirdiğini göreceğiz.

Zarı Güçlendiren Ajanlar: Steroller ve Hopanoidler

Ökaryotik ve prokaryotik hücre zarlarının kimyasal bileşimleri arasındaki temel farklılıklardan bir

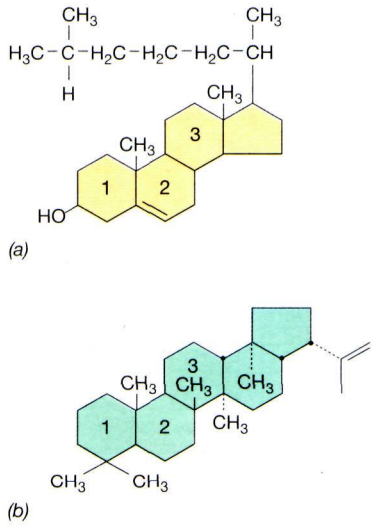


● **Şekil 4.15 Sitoplazmik zar.** (a) Fototrofik bir bakteri olan *Halorhodospira halochloris*'in sitoplazmik zarından elde edilmiş olan fotosentetik zar yığınlarının elekron mikrografı. Çok sayıdaki çift katlı lipid tabakasına dikkat ediniz. Çift katlı lipid tabakalarının her biri yaklaşık 8 nm kalınlığındadır. (b) (a)'da görülen ünit zarlardan birinin şematik gösterilişi.



● **Şekil 4.16 Sitoplazmik zarın yapısı.** İç yüzey (İç) sitoplazma tarafına, dış yüzey (Dış) ise dış ortama bakar. Sitoplazmik zarın matriks kısmı fosfolipidlerden oluşur. Fosfolipidlerin hidrofobik grupları iç tarafa, hidrofilik grupları ise su ile etkileşecek şekilde dış tarafa yönelmiştir. Matrikse gömülü olan proteinlerin yağ asitleri içinde kalan kısımları oldukça hidrofobik karakterdedir. Hidrofilik proteinler, metal iyonları ve elektriksel yük taşıyan diğer bileşikler, hidrofilik yüzeylere tutunmuş olabilirler. Bazı kimyasal farklılıklar olmakla birlikte, prokaryotik ve ökaryotik organizmaların sitoplazmik zarlarının genel yapısı birbirine benzer (Şekil 4.19d'de istisnai bir yapı görülmektedir.)

tanesi, ökaryotlardaki zarların sterolleri içermesidir (Şekil 4.17*a*, *b*●). Steroller hemen hemen hiçbir prokaryotik zarda bulunmaz (metanotropik bakteriler ve mikoplazmalar bu kuralın istisnalarıdır,



● **Şekil 4.17 Steroller ve hopanoidler.** (a) Tipik bir sterol olan kolesterol'ün yapısı. (b) Bir hopanoid olan diplopten'in yapısı. Steroller ökaryotların, hopanoidler ise bazı prokoyatların zarlarında bulunur. Halkalar içinde yer alan sayılar (1, 2 ve 3) steroller ile hopanoidlerin temel yapısal benzerliğini ortaya koymak için kullanılmıştır.

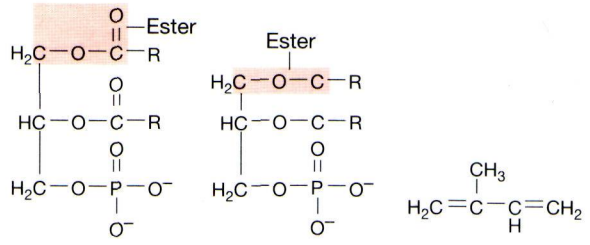
Kısım 12.6 ve 12.21). Hücre tipine bağlı olarak, ökaryotik zarlardaki toplam lipidlerin % 5–25'ini steroller oluşturur.

Steroller ve bunlara benzeyen diğer moleküller düzlemsel yapılı ve esnek olmayan özellikte iken, yağ asitleri kıvrılıp, bükülebilirler. Dolasıyla, zar yapısında sterollerin bulunması, onu kararlı hale getirir ve daha az esnek yapar. Sterollere benzeyen ve *hopanoidler* adı verilen moleküller birçok *Bacteria*'nın zarlarında yer alır ve ökaryotik hücrelerdeki sterollere benzer bir rol oynarlar. Oldukça yaygın olarak bulunan bir hopanoid olan *diplopten* bir C_{30} hopanoiddir (Şekil 4.17b). Bilindiği kadarıyla hopanoidler *Archaea* türlerinde bulunmaz.

Archaea'da Bulunan Zarlar

Archaea'da bulunan lipidler diğer organizmalardakinden farklıdır. *Bacteria* ve *Eukarya* lipidlerinde yağ asitlerini gliserole bağlayan bağlar *ester* bağları iken (Şekil 4.18*a*●; Kısım 3.4), *Archaea* lipidlerinde gliserol ile hidrofobik yan zincirler arasında *eter* bağları kurulur. Ayrıca, *Archaea* lipidleri yağ asitleri içermez; yağ asitleri yerine yan zincir olarak beşkarbonlu bir hidrokarbon olan *izopren* (Şekil 4.18*c*) birimleri yer alır. Bununla birlikte, *Archaea*'daki sitoplazmik zarın genel mimarisi, her iki yüzeyinde hidrofilik, iç kısımda ise hidrofobik karakterde olup, bu açıdan *Bacteria* ve *Eukarya* zarları ile aynı özelliktedir.

Archaea'da bulunan temel lipidler, gliserol *dieterleri* ve gliserol *tetraeterleri*dir (Şekil 4.19*a*,*b*●). Tet-



● **Şekil 4.18 Lipidlerde bulunan kimyasal bağlar.** (a) *Bacteria* ve *Eukarya*'da bulunan lipidlerdeki ester bağı. (b) *Archaea* lipidlerinde bulunan eter bağı. (c) *Archaea* lipidlerinin hidrofobik yan zincirlerini oluşturan izopren yapısı. *Bacteria* ve *Eukarya* lipidlerindeki yan zincirler ise yağ asitlerinden oluşur.

raeter molekülünde, her gliserol molekülündeki fitanil (dört adet izoprenden oluşur) yan zincirleri birbirine *kovalent olarak bağlanmıştır* (Şekil 4.19b). Dolayısıyla bu yapı, *çift tabakalı* değil, *tek tabakalı* lipid içeren bir sitoplazmik zar halindedir (Şekil 4.19b). Bu tip zar yapısı çok yüksek sıcaklıklarda yaşayan hipertermofilik *Archaea*'da oldukça yaygındır (Kısım 6.10 ve 13.5–13.10).

Prokaryotik organizmalar olan *Bacteria* ile *Archaea*'yı birbirinden ayıran birçok başka özellik bulunmakla birlikte, bu iki filogenetik grubu farklı kılan temel özellik, bunların zar lipidlerinin kimyasıdır.

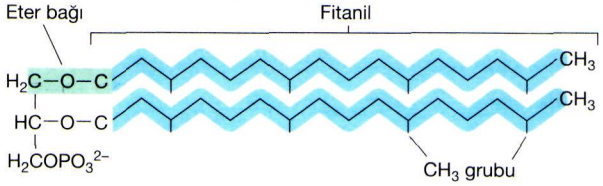
4.5 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Lipidler ve proteinlerden oluşan sitoplazmik zar yüksek seçici geçirgenliğe sahiptir. Lipid ve proteinler dış kısımları hidrofilik, iç kısmı hidrofobik olan iki tabaka oluştururlar. Steroller ve hopanoidler gibi bazı moleküller zarı güçlendirirken, integral proteinler taşıma ve zarla ilgili diğer süreçlerde iş görürler. *Bacteria* ve *Eukarya*'nın aksine, *Archaea* eter bağları taşıyan lipidler içerir ve bazı *Archaea* türleri çift tabakalı yerine tek tabakalı zarlar içerir.

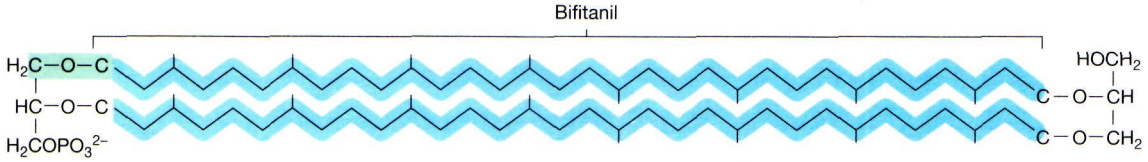
- Çift katlı lipidin temel yapısını çiziniz.
- Sterol ve hopanoid gibi bileşiklerin sitoplazmik zarı kararlı hale getirme nedeni nedir?
- *Bacteria* ve *Archaea* lipidlerinde bulunan gliserol ile hidrofobik kısımlar arasındaki bağları karşılaştırınız.

4.6 Sitoplazmik Zar: İşlev

Sitoplazmik zar hücrenin içi ile dış ortam arasında bir bariyer olmanın ötesinde, hücrenin işlevselliğinde önemli roller oynar. Bunların ilki ve en önde geleni, zarın bir *geçirgenlik engeli* olarak işlev görmesi ve böylece sitoplazmik bileşenlerin pasif olarak hücreden sızmalarına engel olmasıdır (Şekil 4.20●). Zarın bir başka görevi birçok proteini barındırmasıdır. Bunların bazıları biyoenerjetik işlevlerde görev alan enzimler olup, diğer proteinler maddelerin hücre içine veya dışına aktarımında iş görürler.

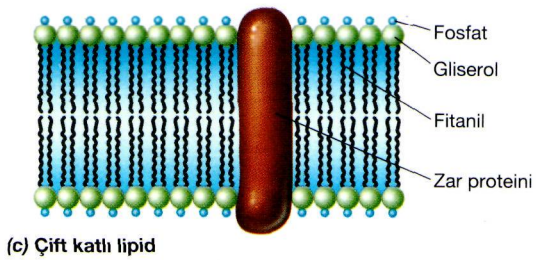


(a) Gliserol dieter

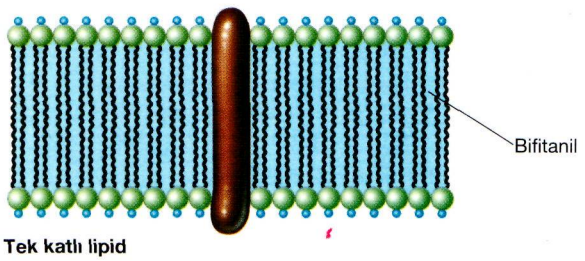


(b) Digliserol tetraeter

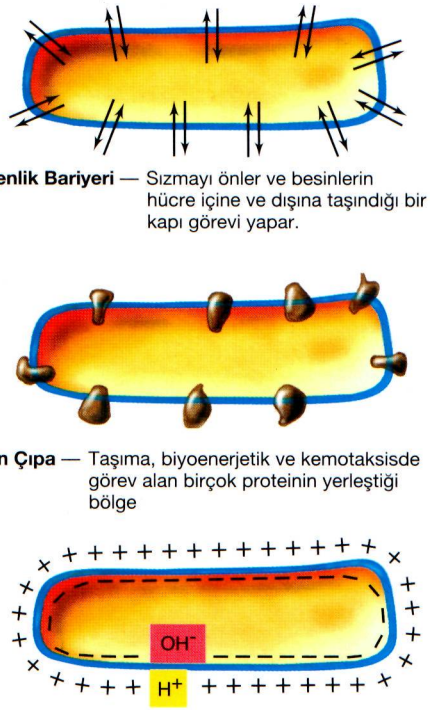
● **Şekil 4.19 *Archaea*'da bulunan temel lipidler ve *Archaea* zarlarının yapısı.** (a) Gliserol dieterler. (b) Digliserol tetraeterler. Her iki durumda da hidrokarbonun eter bağları ile gliserole bağlandığına dikkat ediniz. Fitanildeki hidrokarbon (C_{20}) (a) ve bifitanildeki hidrokarbon (C_{40}) (b). (c, d) *Archaea*'nın zar yapısı. (c) Çift katlı lipid. (d) Tek katlı lipid.



(c) Çift katlı lipid



(d) Tek katlı lipid



1. **Geçigenlik Bariyeri** — Sızmayı önler ve besinlerin hücre içine ve dışına taşındığı bir kapı görevi yapar.
2. **Protein Çıpa** — Taşıma, biyoenerjetik ve kemotaksisde görev alan birçok proteinin yerleştiği bölge
3. **Enerjinin Korunması** — Proton motiv gücün oluşturulduğu ve kullanıldığı bölge

● **Şekil 4.20 Sitoplazmik zarın temel işlevleri.** Yapısal olarak zayıf olmakla birlikte, sitoplazmik zarın önemli hücresel işlevleri vardır.

Bölüm 5'de sitoplazmik zarın hücredeki temel *enerji saklama* bölgesi olduğunu göreceğiz. Protonlar (H^+) ile hidroksil iyonları (OH^-) zarın iki yüzeyi arasında birbirlerinden ayrılmış halde bulundukları için, zar enerjetik olarak "yüklü" olabilir (Şekil 4.20). Yüklerin bu şekilde ayrılmış olması, şarj edilmiş bir bataryaya benzer şekilde potansiyel enerji taşır. Zarın bu enerjetik durumu *proton motiv güç* (PMF) olarak adlandırılır ve bu durum hücredeki enerji gerektiren taşıma, hareket ve ATP sentezi gibi işlevlerin sürdürülmesinden sorumludur.

Geçirgenlik Engeli Olarak Sitoplazmik Zar

Hücrenin içi (sitoplazma) tuzları, amino asitleri, şekerleri, nükleotitleri, vitaminleri, koenzimleri ve çözünebilen diğer maddeleri içeren sulu bir çözelti halindedir. Sitoplazmik zarın iç kısmının hidrofobik özellikte olması, zarı difüzyona karşı güçlü bir engel haline getirir. Hidrofobik özellikteki bazı küçük moleküller difüzyon yoluyla zardan geçebilmekle birlikte, hidrofilik olan ve elektrik yükü taşıyan moleküller zardan geçemezler. Bu tip moleküller özgül olarak taşınırlar. Çok küçük bir bileşik olan hidrojen iyonu (H^+) bile, elektrik yükü taşıdığı için, sitoplazmik zardan difüze olamaz.

Su molekülü çift tabakalı lipiddeki fosfolipid molekülleri arasından geçebilecek kadar küçük olduğu için, zardan serbestçe difüze olabilir (Tablo 4.2). Bununla birlikte, suyun zardan geçişi, *akuaporinler* adı verilen taşıyıcı proteinler tarafından büyük ölçüde hızlandırılır. Bu proteinlerin zar içinde oluşturdukları kanallar, sadece su moleküllerinin sitoplazma içine ve dışına doğru taşınmasını sağlarlar. Örneğin *Escherichia coli*'de bulunan AqpZ, yapısı oldukça iyi anlaşılmış bir su kanalıdır. AqpZ proteininin sentezi düşük ozmotik koşullar altında büyük ölçüde artar. Bu koşullarda AqpZ hücrenin hipoozmotik şoka uğramaması için, suyu dışarı taşıyan bir *eksportır* olarak çalışır. Yüksek ozmotik koşullarda AqpZ'nin miktarı daha azdır; bu durumda AqpZ suyun hücre *içine* taşınmasını sağlar. Böylece suyun, daha fazla çözünen içeren tarafa doğru geçmesi önlenmiş olur.

Biyolojik öneme sahip bazı bileşiklerin bağıl geçişgenlikleri Tablo 4.2'de gösterilmiştir. Bu tabloda görüldüğü gibi, birçok bileşik pasif yolla hücre içine girmez; dolayısıyla taşınması gerekir. Tablo 4.2'deki verilerden anladığımız bir başka nokta, prokaryotik hücrelerdeki su akışının tamamen difüzyona bağlı olmadığı, akuaporinlerin yardımı aracılığı ile de sağlandığıdır.

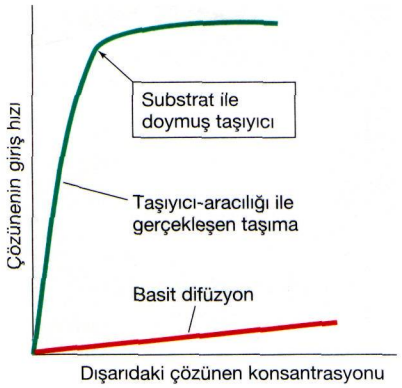
Taşıyıcı Proteinlerin Gerekliliği

Taşıyıcı proteinler maddeleri zarlardan taşımakla kalmaz, aynı zamanda çözünenleri konsantrasyon gradiyentinin *zıt* yönünde biriktirirler. Mikroorganizmalarda taşıyıcılar aracılığı ile gerçekleşen taşınmaya neden gereksinim olduğunu anlamak kolaydır. Eğer çözünenlerin hücreye girmesini sağlayan tek yol difüzyon olsaydı, hücreler asla biyokimyasal tepkimeleri sürdürmek için gerekli hücre-içi konsantrasyonlara ulaşamazlardı; çünkü hem alınma hızı, hem de difüze olabilen çözünenlerin hücre-içindeki miktarları, bunların dışarıdaki konsantrasyonları ile orantılıdır (Şekil 4.21●). Besin maddelerinin doğadaki konsantrasyonu genellikle çok düşüktür. Doğadaki miktarlar tipik bir mikrobiyal kültür ortamındaki (mikroorganizmaları

Tablo 4.2 Çeşitli moleküllere karşı zar geçirgenliğinin karşılaştırılması

Bileşik	Geçirgenlik hızı[a]
Su	100
Gliserol	0.1
Triptofan	0.001
Glukoz	0.001
Klor iyonu (Cl^-)	0.000001
Potasyum iyonu (K^+)	0.0000001
Sodyum iyonu (Na^+)	0.00000001

[a] Bağıl ölçek—Su geçirgenliği 100 olarak kabul edildiğinde, bu değere göre geçirgenlik ölçüsü. Zarın suya karşı geçirgenliği akuaporinler tarafından etkilenebilir (metin içine bakınız).



● **Şekil 4.21 Difüzyon ve taşıma süreçlerinde alım hızı ile dıştaki konsantrasyon arasındaki ilişki.** Taşıyıcı aracılığı ile gerçekleşen süreçte, alım hızının nispeten düşük dış konsantrasyonlarda doygunluğa ulaştığına dikkat ediniz.

laboratuvarda üretmek için kullanılan çözeltiler) miktarların çok altındadır. Dolayısıyla hücreler besinleri hücre içinde biriktirebilecek taşıyıcı mekanizmalara sahip olmak zorundadırlar.

Taşıyıcı aracılığı ile gerçekleşen aktarım sistemleri *doygunluk etkisi* gösterirler. Eğer substrat konsantrasyonu taşıyıcıyı doyuracak kadar yüksekse -ki bu durum çok düşük substrat konsantrasyonlarında bile gerçekleşebilir- alınma hızı maksimum olur ve daha fazla substrat eklenmesi hızı artırmaz (Şekil 4.21). Bu özellik sayesinde, besinler çevrede çok düşük miktarlarda olsalar bile sitoplazma içinde daha yoğun olarak biriktirilebilirler.

Taşıyıcı aracılığı ile gerçekleşen aktarımın bir başka özelliği *yüksek özgüllükte* olmasıdır. Birçok taşıyıcı protein sadece tek tip molekülle etkileşirken, diğerleri birbirlerine benzeyen molekül sınıflarına ilgi gösterirler. Örneğin, birbirlerine benzeyen şekerleri ya da amino asitleri taşıyan taşıyıcılar vardır. Böylece her bir amino asit ya da şeker için ayrı taşıyıcı proteinlerin olması gerekmez.

Taşıyıcı proteinlerin sentezi hücre tarafından *düzenlenir*. Taşıyıcıların özgül bir bileşeninin zarda bulunuşu, hem çevrede besinlerin bulunup bulunmamasına, hem de bu besinlerin konsantrasyonuna bağlıdır. Bu sonuncusu önemli bir etmendir; çünkü belirli bir besinin yüksek konsantrasyonları belirli tipteki taşıyıcı aracılığı ile taşınırken, düşük konsantrasyonlardaki besinin taşınması yüksek afiniteli taşıyıcı aracılığı ile gerçekleşir.

4.6 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Sitoplazmik zarın asal işlevi, sitoplazmik metabolitlerin dış ortama sızmasını önleyen geçirgenlik engeli olmasıdır. Seçici geçirgenlik birçok çözünenin difüzyonunu da önler. Besinlerin konsantrasyon gradiyentinin zıt yönünde biriktirilebilmesi, özgül taşıma mekanizmalarının kullanılması ile mümkün olur.

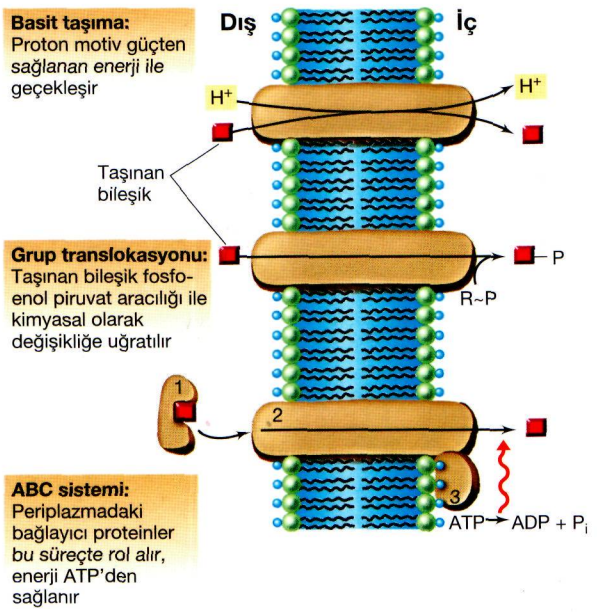
- Geçirgenliğin yanı sıra, sitoplazmik zar hangi işlevlere sahiptir?
- Bir hücrenin besinleri içine alabilmesi için sadece difüzyona bağımlı olmama nedenlerinden iki tanesini belirtiniz.
- Sitoplazmik zarın fiziksel olarak hasara uğraması, diğer hücre bileşenlerinin hasarından daha ciddi sorunlar yaratır. Bunun nedenini açıklayınız.

4.7 Zardaki Taşıma Sistemleri

Buraya kadar gördük ki, besinlerin taşınması ve atıkların uzaklaştırılması önemli hücresel işlevlerdir. Prokaryotlarda farklı taşıma mekanizmaları evrimleşmiş olup, bunların her biri kendine özgü özellikler taşır. Şimdi bu konu üzerinde duracağız.

Zardaki Taşıyıcı Proteinlerin Yapıları ve İşlevleri

Prokaryotlarda maddelerin taşınmasında görev yapan en az üç sistem vardır: **basit taşıma, grup translokasyonu** ve **ABC sistemi**. Basit taşıyıcılar sadece zarı kateden bir proteine gereksinim duyarlar. Grup translokasyonu ise bir seri protein ile gerçekleşir. ABC sistemi *substrat-bağlayıcı protein, zar transportırı* ve *ATP-hidroliz eden protein* olmak üzere üç ayrı bileşen içerir (Şekil 4.22●). Bu taşıyıcı sistemlerin tümü proton motiv güç, ATP ya da enerji açısından zengin bir başka bileşik halinde enerjiye gereksinim duyar.



● **Şekil 4.22 Zardaki taşıma sistemlerinin üç sınıfı.** Grup translokasyonu, aktarılan bileşikte kimyasal değişikliğe (fosforilasyon) neden olduğu halde, basit taşıyıcıların ve ABC sisteminin bileşikleri kimyasal değişikliğe uğratmadan taşıdıklarına dikkat ediniz. ABC sistemindeki üç protein 1, 2 ve 3 olarak işaretlenmiştir.

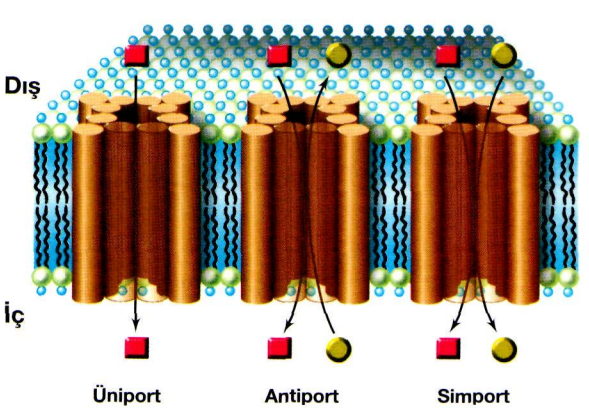
Hemen hemen bütün bakteriyal taşıma sistemlerinde, zarı kateden proteinlerin birincil ve ikincil yapıları büyük ölçüde homoloji gösterir ve ortak evrimsel köklere sahip görünür. Bu taşıyıcılar zarı kateden 12 tane α-heliks yapısındadır (Kısım 3.7). Bu α-heliksler, hücre içine taşınacak olan bileşiğin içinden geçebileceği bir kanal oluştururlar (Şekil 4.23•). Taşıma işleminin gerçekleşmesi sırasında, substrata bağlanan protein konformasyon değişikliğine uğrar ve bu olay bileşiğin zardan taşınması ile el ele gerçekleşir.

En az üç farklı transportır *sınıfı* tanımlanmıştır (Şekil 4.24). *Üniportırlar* bir molekülü zardan tek yöne doğru taşırlar. *Simportırlar* bir bileşiği bir başka bileşik -tipik olarak bir proton (H^+)- ile birlikte taşırlar. *Antiportırlar* ise iki bileşiği aynı anda, ancak birbirine *zıt* yönde taşırlar (Şekil 4.23).

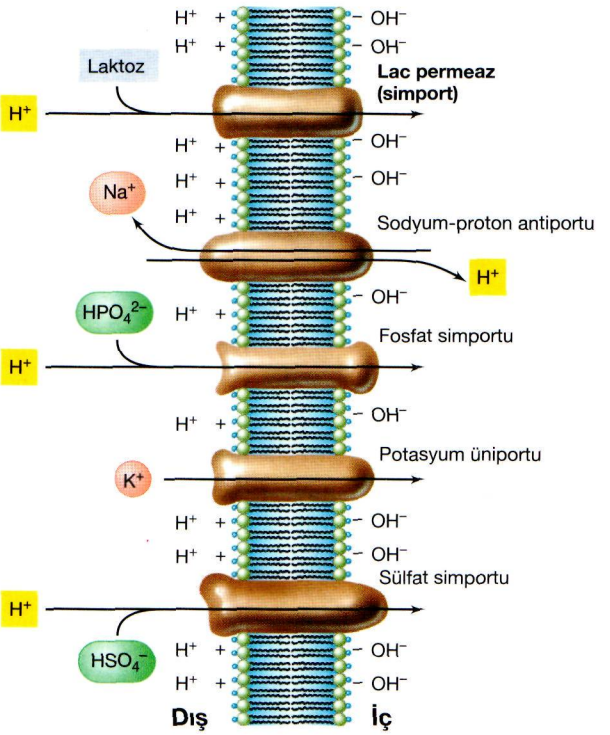
Escherichia coli'de Laktoz Alımı: Lac Permeaz

Escherichia coli bakterisi bir disakkarit olan laktoz şekerini metabolize eder. *E. coli*'nin laktozu hücre içine alması, *Lac permeaz* adı verilen bir simportır aktivitesi ile mümkün olur. Lac permeaz basit transportır grubundadır. Lac permeaz aktivitesi diğer basit transportırlarla karşılaştırmalı olarak şekil 4.24•'de gösterilmiştir.

Lac permeaz enerji gereksinir. Taşınan her laktoz molekülü ile birlikte protonlar da hücre içine aktarılır. Bu arada proton motiv güçte saklı enerji yavaş yavaş azalır. Ancak proton motiv güç, daha sonraki bölümlerde (Bölüm 5 ve 17) anlatılacak olan enerji-veren tepkimeler aracılığı ile hücre içinde yeniden oluşturulur. Lac permeaz aktivitesinin net sonucu, laktozun hücre içindeki konsantrasyonunun yeterli düzeye çıkana kadar biriktirilmesi ve metabolize edilerek yararlı enerji eldesinde kullanılmasıdır.



• **Şekil 4.23 Zarı-kateden taşıyıcıların yapıları ve taşıma tipleri.** Prokaryotlardaki zarı-kateden taşıyılar tipik olarak 12 adet α-heliks içerirler. Bu heliksler, zar içinde bir kanal oluşturacak şekilde, dairesel olarak yan yana sıralanırlar. Burada görülen üç ayrı taşıyıcı, farklı tipdeki taşıma olaylarını gerçekleştirir. Antiport ve simportda birlikte taşınan moleküller yeşil ile gösterilmiştir.

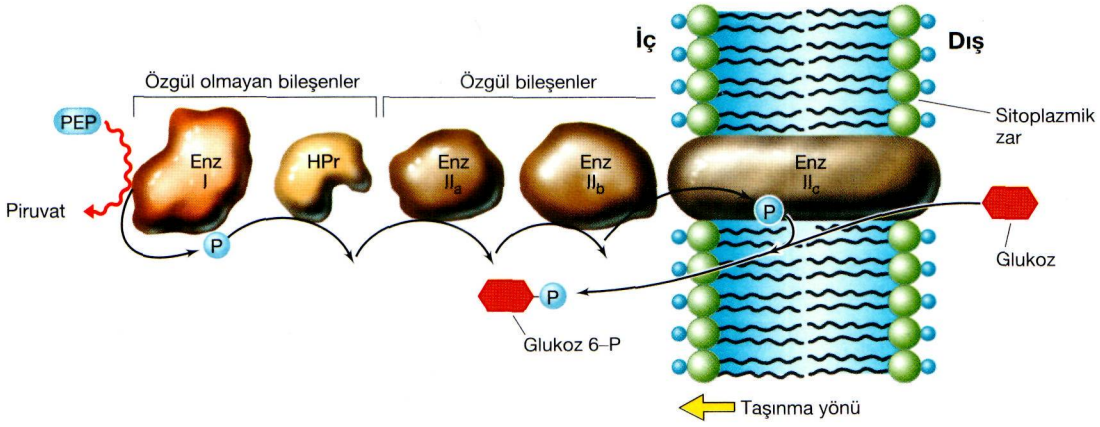


• **Şekil 4.24 *Escherichia coli*'deki Lac permeaz (simport) ve iyi tanımlanmış diğer basit taşıyıcılar.** Zarı-kateden proteinler bu şemada globüler formda gösterilmiş olmakla birlikte, gerçek yapıları Şekil 4.23'de gösterilen şekildedir. Simport ve antiport, proton motiv güçten sağlanan enerji ile gerçekleştirilir. Proton motiv güç, hücredeki enerji-veren (katabolik) tepkimeler tarafından rejenere edilir.

Grup Translokasyonu: Fosfotransferaz Sistemi

Grup translokasyonu, taşınan bileşiğin zardan geçerken *kimyasal olarak değiştirildiği* bir aktarım mekanizmasıdır. Üzerinde en çok çalışma yapılmış olan grup translokasyonu sistemlerinden biri *E. coli*'de bulunan ve glukoz, mannoz ve fruktoz şekerlerini taşıyan mekanizmadır. Bu bileşikler taşınma sırasında **fosfotransferaz sistemi** tarafından *fosforile edilirler*.

Fosfotransferaz sistemi çeşitli proteinleri içeren bir ailedir. Bu ailedeki beş protein herhangi bir şekerin taşınması için zorunludur. Şeker taşınmadan önce, fosfotransferaz sistemindeki proteinler şelale mekanizması ile fosforile ve defosforile edilirler. Bu olay, zarı katedecek şekilde yerleşmiş olan ve *Enzim* II_c adı verilen protein fosfat gurubu kazanana ve taşınacak olan şekeri fosforile edene kadar sürer (Şekil 4.25•). HPr adı verilen küçük bir protein ile bunu ve EnzimII_a'yı fosforile eden enzim (Enzim I) sitoplazmik proteinlerdir. Buna karşılık Enzim II_b zarın iç yüzeyi üzerinde yerleşmiş olup,



● **Şekil 4.25** ***Escherichia coli*'deki fosfotransferaz sisteminin mekanizması.** Glukoz alımı ile ilgili olan bu sistem beş proteinden oluşur: Enzim (Enz) I, Enzim II_a, II_b, II_c ve HPr. Fosfat grubu, fosfoenolpiruvat (PEP) ile Enzim II_c arasındaki proteinler üzerinden aşamalı olarak şekere kadar aktarılır. Enzim II_c şekeri taşır (ve fosforile eder.) HPr ve Enz I proteinleri özgül olmayıp, herhangi bir şekerin taşınmasında iş görürler. Enz II bileşenleri ise belirli bir şeker için özgüldürler.

EnzimII_c integral zar proteinidir (Şekil 4.25). HPr ve EnzimI fosfotransferaz sisteminin özgül olmayan bileşenleri olup, çeşitli şekerlerin alınmasında iş görürler. Buna karşılık, taşınacak olan her şeker tipi için özgül bir EnzimII bulunur (Şekil 4.25).

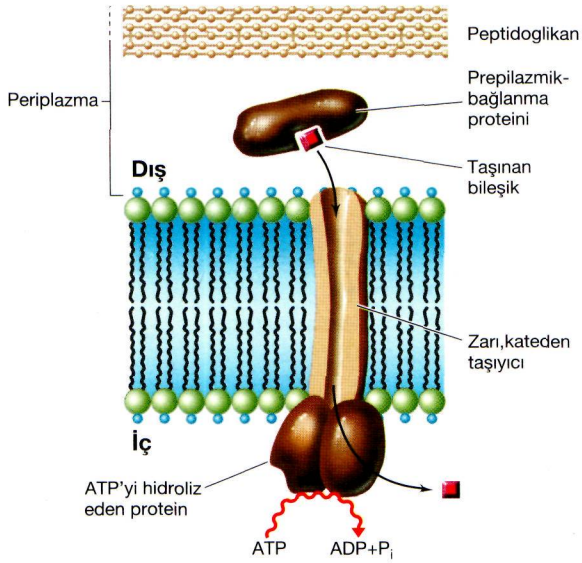
Fosfotransferaz sistemine gereken enerji, enerjice zengin bir bileşik olan *fosfoenolpiruvat*'tan sağlanır. Ancak burada belirtilmesi gereken bir nokta vardır. Glukoz molekülünün taşınması sırasında harcanan enerji, enerjice zengin fosfat bağı şeklinde olmakla birlikte (Şekil 4.25), glukozun glukoz 6-P'a fosforile edilmesi, hücre-içi glukoz metabolizmasının (glikoliz, Kısım 5.10) ilk basamağıdır. Dolayısıyla, fosfotransferaz sistemi, glukozu merkezi metabolik yola girmeye hazır hale getirir.

Periplazmik Bağlanma Proteinleri ve ABC Sistemi

Bu bölümün ilerleyen kısımlarında (Bkz. Kısım 4.9) gram-negatif bakterilerin sitoplazmik zarı ile lipid açısından zengin dış zar tabakası arasında *periplazma* adı verilen bir bölge içerdiklerini göreceğiz (Bkz. Şekil 4.35). Periplazma çeşitli proteinler içerir ve bunların birçoğu taşıma işinde görev alır. Bu proteinler *periplazmik-bağlanma proteinleri* olarak adlandırılırlar. Bu tip taşıyıcı sistemler üç bileşenden oluşur: (1) periplazmik-bağlanma proteinleri; (2) zarı kateden proteinler ve (3) ATP hidroliz eden proteinler (kinazlar). Üçüncü gruptaki proteinler gerekli enerjiyi sağlarlar.

Bu tip transportırlar *ABC transport sistemleri* olarak adlandırılır. ABC harfleri ATP-bağlayıcı kaset (=ATP-binding cassette) sözcüklerinin baş harflerini göstermektedir (Şekil 4.26●). Prokaryotlarda 200'den fazla ABC taşıma sistemi tanımlanmış olup, yapısal çalışmalar sonucunda bunların birbirlerine *akraba* proteinler oldukları gösterilmiştir. ABC taşıyıcılar, şekerler ve amino asitler gibi organik besinlerin, sülfat ve fosfat gibi çeşitli inorganik besinlerin ve iz elementlerin taşınmasında görev alırlar.

ABC tipi taşıyıcı sistemlerin ilginç özelliklerinden biri, periplazmik-bağlanma proteinlerinin substrata karşı çok yüksek ilgi göstermeleridir. Bu proteinler periplazma içinde hareket eder ve substratlar çok düşük derişimde de olsa onlara bağlanırlar. Örneğin 1 mikromol (10^{-6}M) ya da daha az derişimdeki substrat periplazmik-bağlanma proteinleri tarafından kolayca taşınır. Periplazmik-



● **Şekil 4.26** **ATP-Bağlayan Kaset taşıyıcının (ABC-tipi) mekanizması.** Periplazmik bağlanma proteini substrata karşı yüksek ilgi gösterir, zarı-kateden protein taşıma kanalı olarak iş görür, sitoplazmik ATP-hidroliz-eden protein ise taşıma olayı için enerji sağlar. *Eseherichia coli*'deki maltoz taşıyan sistem ABC sistemine bir örnektir. Gram-negatif duvar yapısı ve periplazma konusu Kısım 4.9'da anlatılmaktadır.

bağlanma proteini ile substratın oluşturduğu kompleks, zarı-kateden bileşen ile etkileşir ve taşınma olayı ATP'den sağlanan enerji ile gerçekleşir (Şekil 4.26).

Gram-pozitif bakteriler periplazma içermediği halde bu organizmaların birçoğunda bağlanma-proteininin aracılık ettiği taşıma sistemleri olduğu bulunmuştur. Ancak, gram-pozitif bakterilerdeki özgül bağlanma proteinleri hareketli olmayıp, sitoplazmik zara tutunmuş durumdadır. Bu proteinler de substrata bağlanır bağlanmaz, zarı kateden bileşen ile etkileşir ve ATP harcanması ile taşıma işlemi gerçekleşir.

Protein İhracı

Buraya kadar küçük moleküllerin taşınmasını gözden geçirdik. Protein gibi büyük moleküller nasıl aktarılır? Birçok protein doğru işlev görebilmek için ya sitoplazmik zarın *dışına* taşınmak ya da özgül olarak zara katılmak zorundadır. Prokaryotik hücrelerdeki protein aktarımı *translokazlar* adı verilen proteinler aracılığı ile gerçekleşir. En önemli translokazlardan bir tanesi Sec (sekretör) sistemidir.

Örneğin SecYEG, zar ile birliktelik içinde olan bir translokazdır. Bunun görevi belirli proteinleri ihraç etmek, diğerlerini ise özgül bir biçimde zar içine yerleştirmektir. Bazı translokazlar ihraç ettikleri protein tipleri açısından çok özgül olmakla birlikte, SecYEG prokaryotlarda yaygın olarak bulunur ve farklı proteinleri aktarabilir. Taşınacak proteinlerin nasıl belirlendiği ayrı bir konu olup, bu tartışma daha sonraki bölümlerde yapılacaktır (Kısım 7.17).

Protein ihracı bakteriler için önemlidir; çünkü, birçok bakteriyal enzim hücre dışında işlev yapar (ekzoenzimler). Örneğin amilaz ya da selülaz gibi hidrolitik enzimler nişasta ya da selülozu parçalayacakları dış ortama salınırlar (Şekil 3.6b). Bu enzimlerin hidrolizi ile oluşan glukoz hücre tarafından karbon ve enerji kaynağı olarak kullanılır. Patojenik bakterilerin çoğu protein toksinleri ya da diğer zararlı proteinleri enfeksiyon sırasında konakçının içine salarlar. Bu büyük moleküller sitoplazmik zardan geçmek zorundadır ve SecYEG gibi translokazlar bu aktarım olaylarına yardımcı olurlar.

4.7 Kavramların Gözden Geçirilmesi

En az üç tip taşıyıcı olduğu bilinmektedir. Bunlar: basit taşıyıcılar, fosfotransferaz-tipi taşıyıcılar ve ABC sistemleridir. Bu sonuncusu birbirleriyle etkileşen üç bileşen içerir. Taşıma işlemi proton motiv güç, ATP ya da enerjice zengin başka bir bileşikten enerji sağlanmasını gerektirir.

- Basit taşıyıcıların, fosfotransferaz sisteminin ve ABC taşıma sisteminin enerji gereksinimlerini karşılaştırınız.
- Taşınan molekülde ortaya çıkan kimyasal değişiklikler açısından üç tip taşıma sistemini karşılaştırınız.
- Ortamda çok düşük miktarda bulunan besinlerin taşınmasına en uygun olan taşıma sistemi hangisidir? Niçin?
- Proteinler hücreden nasıl ihraç edilirler?

4.8 Prokaryotik Hücre Duvarı: Peptidoglikan ve Buna Benzeyen Moleküller

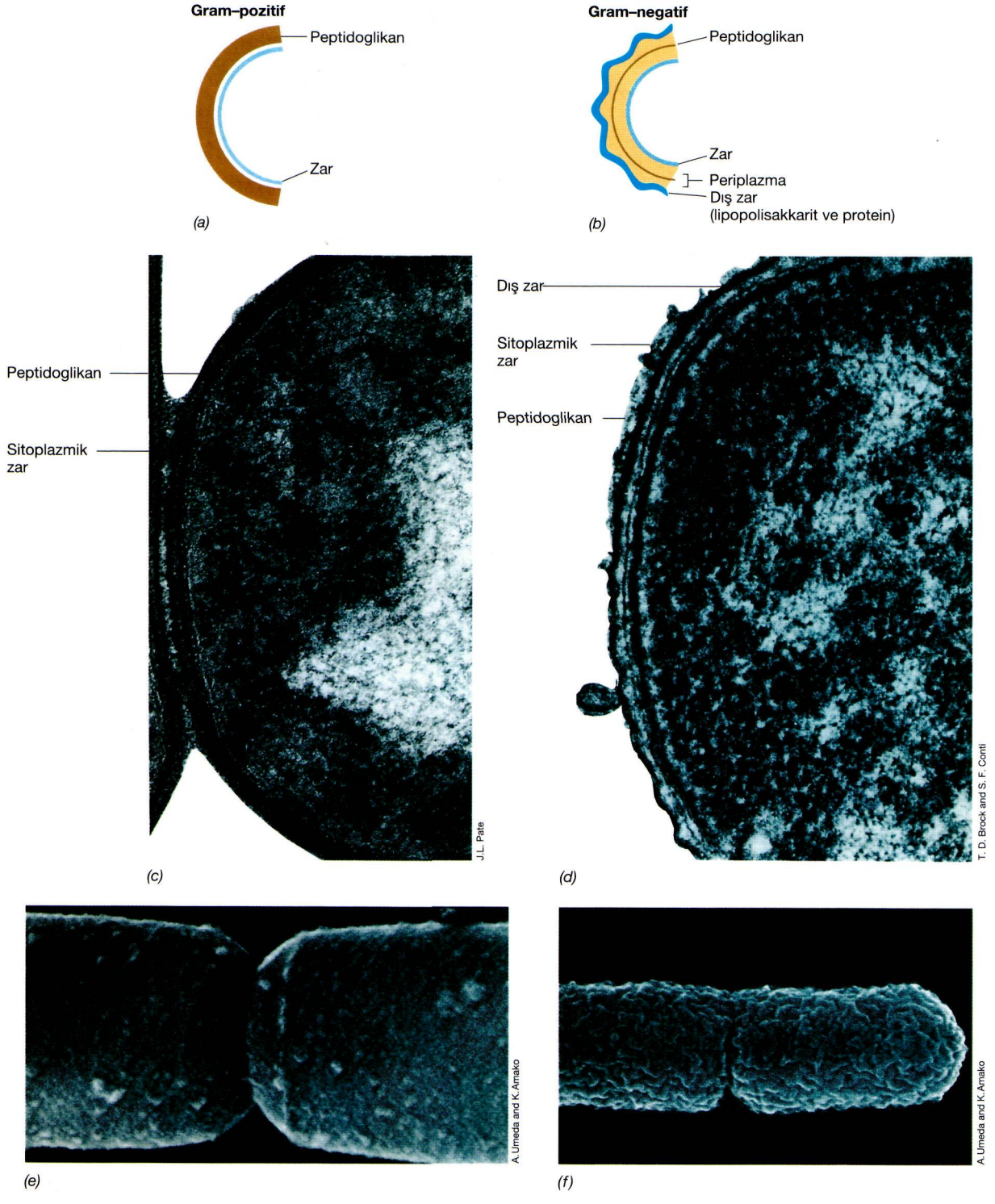
Bakteri hücreleri yüksek derişimde çözünmüş madde içerirler. Bu durum örneğin *Escherichia coli* gibi bir bakteride yaklaşık 2 atmosferlik turgor basıncı oluşturur. Bu basınç kabaca bir otomobil lastiğindeki iç basınca eşittir. Bu basınca dayanabilmek için bakteriler **hücre duvarı** içerir. Hücre duvarı aynı zamanda bakteriye biçim verir ve dayanıklılık kazandırır.

Bacteria'nın iki temel gruba ayrıldığını ve bunların **gram-negatif** ve **gram-pozitif** bakteri grupları olduğunu daha önce öğrendik. Bu iki grup arasındaki temel fark *Gram boyamaya* dayandırılmış (Bkz. Kısım 4.1) olmakla birlikte, Gram-boyama tepkimesinin temeli hücre duvarı yapısındaki farklılığa dayanır. Gram-pozitif ve gram-negatif hücrelerin duvarları elektron mikroskopta oldukça farklı görünür (Şekil 4.27●). Gram-negatif hücre duvarı çok tabakalı ve oldukça karmaşık iken, gram pozitif hücre duvarı esas olarak tek tip bir molekülden oluşur ve genellikle çok daha kalındır.

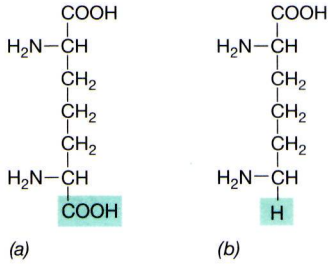
Bu kısımda hem *Bacteria* hem de *Archaea* hücre duvarlarının polisakkarit yapısındaki bileşeni üzerinde duracağız. Bu bileşenler arasında özelde peptidoglikan bulunmakla birlikte, *Archaea*'da bulunan ve peptidoglikana benzeyen ve benzemeyen çeşitli polisakkaritler de vardır. Kısım 4.9'da gram-negatif *Bacteria*'da bulunan duvar bileşenlerini inceleyeceğiz.

Peptidoglikan

Bacteria'daki hücre duvarı sert bir tabaka içerir. Bu tabaka duvarın güçlü olmasından birinci derecede sorumludur. Gram-negatif *Bacteria*'da bu sert tabakanın dışında bazı ek tabakalar daha vardır. Gram-negatif ve gram-pozitif *Bacteria*'daki sert duvar tabakasının kimyasal bileşimi çok benzerdir. **Peptidoglikan** adı verilen bu polisakkarit *N-asetilglukozamin* ve *N-asetilmuramik asit* olmak üzere iki tip şeker türevi ve az sayıda özgül amino asit içerir. Bu amino asitler L-alanin, D-alanin, D-glutamik asit ve ya lizin ya da diaminopimelik asittir (DAP)



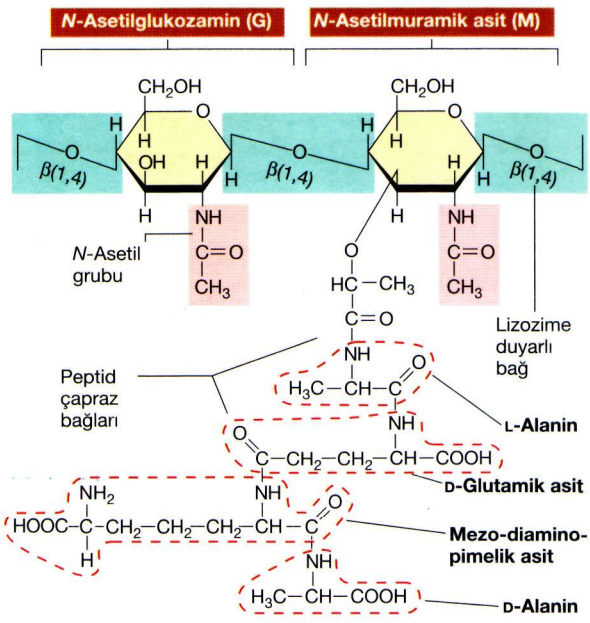
● **Şekil 4.27** ***Bacteria* hücre duvarları.** (a, b) Gram-pozitif ve gram-negatif hücre duvarlarının şematik çizimleri. (c) Gram-pozitif bir bakteri olan *Arthrobacter crystallopoietes* hücre duvarını gösteren transmisyon elektron mikrografı. (d) Gram-pozitif bir bakteri olan *Leucothrix mucor* hücre duvarını gösteren transmisyon elektron mikrografı. (e, f) Gram-pozitif (*Bacillus subtilis*) ve gram-negatif (*Escherichia coli*) *Bacteria*'nın taramalı elektron mikrografları. (e) ve (f)'de görülen hücrelerin yüzey tekstürüne dikkat ediniz. *B. subtilis* ve *E. coli*'nin çapı yaklaşık 1 μm'dir.



● **Şekil 4.28 Peptidoglikandaki çapraz-bağlarda yer alan amino asitler.** (a) Diaminopimelik asit. (b) Lizin. İki molekül arasındaki tek fark renkli olarak gösterilmiştir. Peptidoglikan çapraz-bağlarında bu iki amino aside ek olarak başka amino asitler de bulunur.

(Şekil 4.28●). Bu bileşenler tekrarlanan bir yapı olan *glikan tetrapeptid*'i oluşturacak şekilde birleşirler (Şekil 4.29●).

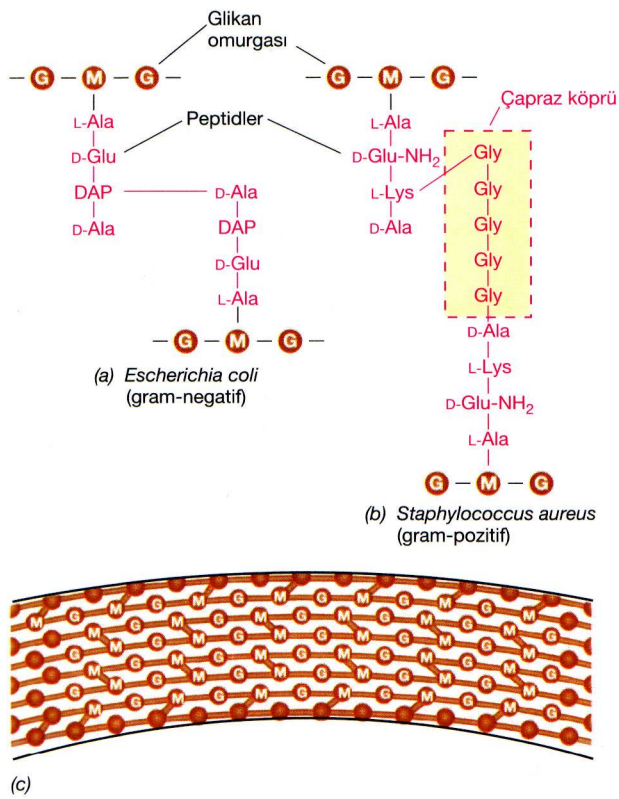
Hücreyi çepeçevre saran bir tabaka halindeki peptidoglikanın temel yapısı, birbirine komşu konumda uzanan tek tek peptidoglikan zincirlerinden oluşur. Tabakanın yapısını kuran glikan zincirleri, amino asitlerden oluşan *tetrapeptid çapraz-bağları* ile birbirlerine bağlanmışlardır. Glikan zincirlerindeki şekerleri birleştiren glikozidik bağlar çok güçlü olmakla birlikte, bu zincirler tek başlarına her yöne doğru güçlü olabilme yeteneğinde değildir. Peptidoglikan yapısının gerçek gücü, tek tek zincirlerin amino asitler aracılığı ile çapraz bağlanmasından kaynaklanır. Bu çapraz bağlanma, farklı *Bacteria*'da farklı ölçülerde gerçekleşir.



● **Şekil 4.29 Poptidoglikan hücre duvarı yapısındaki tekrarlayan glikan tetrapeptid birimlerinden birinin yapısı.** Buradaki yapı *Escherichia coli* ve birçok gram-negatif *Bacteria*'da bulunur. Bazı *Bacteria*'da başka amino asitler de vardır.

Gram-negatif Bacteria'daki çapraz bağlar, diaminopimelik asidin amino grubu ile terminal D-alaninin karboksil grubu arasındaki peptid bağı ile ortaya çıkar (Şekil 4.30*a*●) *Gram-pozitif Bacteria*'daki çapraz bağlar ise *peptid çapraz köprüleri* aracılığı ile sağlanır. Bu peptidlerdeki amino asitlerin çeşidi ve sayısı organizmanın tipine göre değişir. Örneğin iyi çalışılmış gram-pozitif bir bakteri olan *Staphylococcus aureus*'daki peptid çapraz köprüsü beş tane glisin molekülünden oluşur (Şekil 4.30b). Peptidoglikan molekülünün genel yapısı şekil 4.30c'de görülmektedir.

Gram-pozitif *Bacteria*'da hücre duvarının %90'ı peptidoglikandan oluşur. *Teikoik asit* adı verilen bir başka molekül ise genellikle daha küçük miktarlarda bulunur. Bazı bakterilerde hücreyi çevreleyen peptidoglikan tabakası tek katlıdır. Ancak birçok *Bacteria* ve özellikle gram-pozitif *Bacteria*'daki peptidoglikan üst üste yığılmış yaklaşık 25 tabaka içerir. Gram-negatif *Bacteria*'da duvarın yaklaşık % 10'u peptidoglikan, geri kalan büyük kısmı ise



● **Şekil 4.30 *Escherichia coli* ve *Staphylococcus aureus*'daki peptidoglikan tabakayı oluşturmak üzere peptid ve glikan birimlerinin bağlanma biçimi** (a) *E. coli* ve diğer gram-negatif *Bacteria*'da çapraz köprü yoktur. (b) *S. aureus*'daki (gram-pozitif) glisin çapraz-köprüsü. (c) Peptidoglikanın genel yapısı. G, N-asetilglukozamin; M, N-asetilmuramik asit.

Kısım 4.9'da anlatılan dış zar yapısındadır. Gram-pozitif ve gram-negatif hücrelerin biçimi, belirli ölçüde, peptidoglikan zincirlerinin uzunluğu ile zincirler arasındaki çapraz-bağların niteliği ve miktarı tarafından belirlenir.

Peptidoglikan Çeşitleri

Peptidoglikan sadece *Bacteria* türlerinde bulunur. N-asetilmuramik asit şekeri ile diaminopimelik asit amino asidi *Archaea* ve *Eukarya* hücre duvarlarında asla bulunmaz. Buna ek olarak DAP, bazı *Bacteria*'nın peptidoglikanlarında bulunmaz. Bu amino asit bütün gram-negatif ve bazı gram-pozitif türlerdeki peptidoglikan yapısında bulunur. Ancak, gram-pozitif kokların tümünde DAP yerine lizin (Şekil 4.30*b*), az sayıdaki diğer gram-pozitif *Bacteria*'da ise başka amino asitler yer alır. Peptidoglikanın bir başka özelliği D-konfigürasyonda iki amino asit içermesidir ki bunlar, D-alanin ve D-glutamik asittir. Bölüm 3'de gördüğünüz gibi, hücre proteinlerindeki amino asitler L enantiyomerik formdadır (Kısım 3.6)

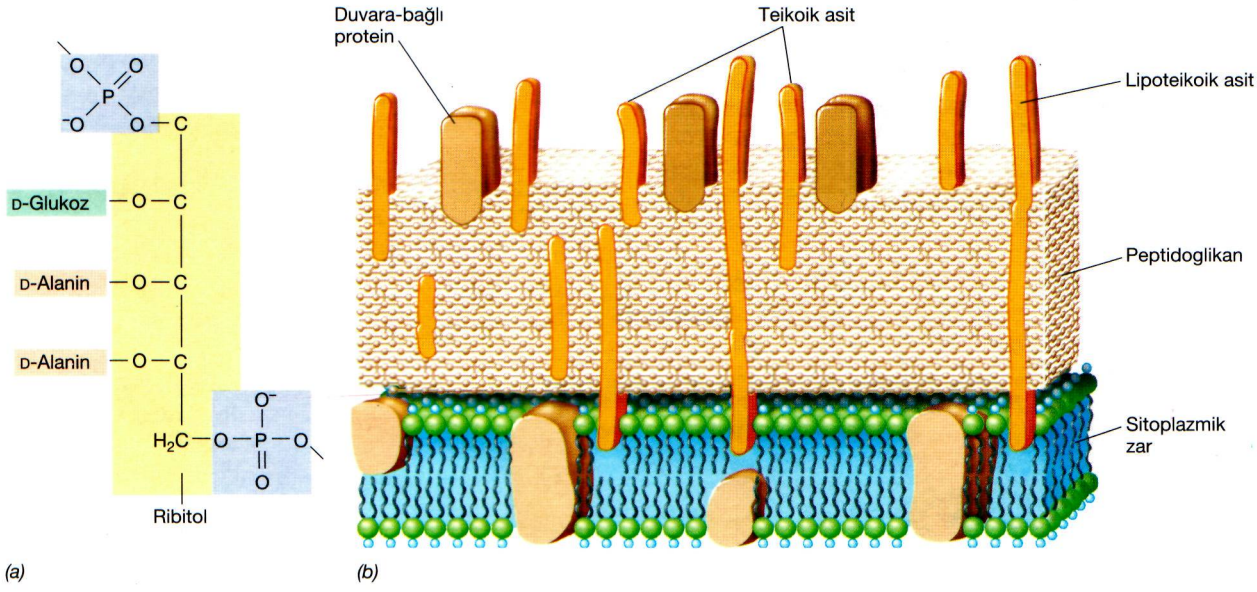
Yüzden fazla farklı peptidoglikan tipi bilinmektedir. Bunları birbirlerinden ayıran fark, çapraz köprüden kaynaklanır. Her peptidoglikan tipinde glikan kısmı tek tip yapıda olup, sadece N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit şekerlerini içerir. Bu şekerler daima β-1,4 bağları ile bağlıdır (Şekil 4.29). Tekrarlanan birimin tetrapeptid kısmındaki temel değişiklik, lizin yerine diaminopimelik asidin bulunuşudur. Ancak bazı organizmalarda 2. pozisyonda yer alan glutamik asit hidroksillenmiş olabildiği gibi, 1. ve 3. pozisyonlardaki amino asitlerde de değişiklikler gözlenebilmektedir. Tetrapeptidde bulunan amino asitlerden herhangi biri çapraz köprüde yer alabildiği gibi, glisin, treonin, serin ve aspartik asit gibi amino asitler de bu köprüde bulunabilir. Ancak dallanmış zincirli ve aromatik halkalı ya da kükürt-içeren yan zincire sahip amino asitler ile histidin, arjinin ve prolin (Şekil 3.12) asla çapraz köprüde yer almaz.

Peptidoglikanın peptid kısmının değişken olmasına karşılık, glukozamin ve muramik asitten oluşan omurga bütün *Bacteria* türlerinde aynıdır.

Teikoik Asitler ve Gram-Pozitif Duvar Yapısı

Gram-pozitif *Bacteria*'nın birçoğu, hücre duvarına gömülü halde asidik bileşikler içerir ve bunlar **teikoik asitler** olarak adlandırılır. *Teikoik asit* terimi, gliserofosfat ya da ribitol fosfat kökleri içeren, duvar, zar ve kapsül polimerlerinin tümünü kapsar. Fosfat esterleri ile bağlı olan bu poli-alkoller genellikle diğer şekerleri ve D-alanin içerirler (Şekil 4.31*a*●). Teikoik asitler negatif yüklü oldukları için, hücre yüzeyinin negatif elektrik yükünden sorumludurlar. Teikoik asitler Ca^{+2} ve Mg^{+2} gibi iki değerli katyonları da bağlayabilirler. Bu katyonların bazıları hücre içine taşınır. Bazı teikoik asitler kovalent olarak zar lipidlerine bağlıdır. Bu gibi teikoik asitlere **lipoteikoik asitler** denir.

Şekil 4.31*b* gram-pozitif *Bacteria*'nın hücre duvarı yapısı ile teikoik asitlerin bu yapı içindeki düzenlenişlerini göstermektedir.



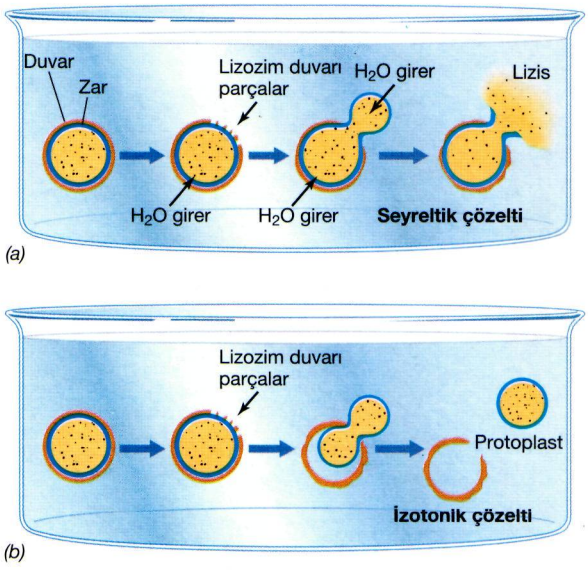
● **Şekil 4.31** **Teikoik asitler ve gram-pozitif hücre duvarının genel yapısı.** (a) *Bacillus subtilis*'deki ribitol teikoik asit yapısı. Teikoik asit, tekrarlanan ribitol birimlerden oluşan bir polimerdir. (b) Gram-pozitif hücre duvarının şematik çizimi.

Duvar İçermeyen Hücreler

Bacteria türlerinin belirleyicisi niteliğinde olan peptidoglikan molekülü bazı ajanlarla parçalanabilir. Bu ajanlardan biri **lizozim** enzimi olup, bu enzim peptidoglikandaki N-asetilglukozamin ile N-asetilmuramik asit kökleri arasında yer alan β-1,4 glikozidik bağları kırar (Şekil 4.29). Bu yolla duvarı zayıflamış olan hücrenin içine su girmeye başlar, hücre şişer ve sonuçta patlar. Bu olay **liziz** olarak adlandırılır (Şekil 4.32*a*●). Lizozim hayvanlardaki gözyaşı, tükürük ve diğer vücut sıvıları gibi salgılarda bulunur ve muhtemelen *Bacteria* enfeksiyonuna karşı bir savunma mekanizması olarak işlev görür.

Bir hücre süspansiyonuna, hücre içine girmeyen (örneğin sükroz gibi) bir çözünen eklenirse, hücre dışındaki çözünen konsantrasyonu hücre içi ile dengeye gelir. *İzotonik* olarak adlandırılan bu koşullar altında da lizozim peptidoglikanı parçalar. Ancak, su hücre içine girmez ve liziz gerçekleşmez. Bunun yerine bir **protoplast** (hücre duvarını kaybetmiş bakteri) oluşur (Şekil 4.32b). Sükroz ile dengelenmiş bu protoplastlar su içerisine konulduğunda derhal lizize uğrarlar. *Sferoplast* sözcüğü sıklıkla protoplast sözcüğünün eşanlamlısı olarak kullanılmakla birlikte, bu iki sözcüğün anlamları birbirlerinden biraz farklıdır. Protoplastlar hücre duvarı materyali içermediği halde, sferoplastlar zarla çevrili yapıya tutunmuş duvar materyali parçaları içerir.

Prokaryotların çoğu hücre duvarı olmaksızın doğadaki varlıklarını sürdüremediği halde, bazıları bu yeteneğe sahiptir. Çeşitli enfeksiyon hastalıklarına neden olan mikoplazmalar (Kısım 12.21) ve doğal olarak duvardan yoksun bir *Archaea* grubu olan *Thermoplasma* (Kısım 13.5) bu yeteneğe sahip organizmalar arasındadır. Bu prokaryotlar serbest yaşayan protoplastlar olup, hücre duvarı olmaksızın hayatta kalabilirler. Bunlar ya çok güçlü zara sahiptir, ya da örneğin hayvan vücudu gibi, ozmotik olarak korunmuş habitatlarda yaşarlar. Bazı mikoplazmaların hücre zarları steroller içerir (Bkz. Kısım 4.5). Steroller zar yapısını güçlü ve dayanıklı hale getirir.



● **Şekil 4.32 Protoplast oluşumu.** (a) Seyreltik çözelti içinde hücre duvarı parçalanır ve protoplast oluşur; ancak sitoplazmik zar çok zayıf yapılı olduğu için, bu protoplast hemen erir. (b) İzotonik konsantrasyonda çözünen (örneğin sükroz) içeren bir çözelti içinde, su protoplast içine girmez; böylece protoplast kararlı halde kalır. Lizozim peptidoglikandaki β-1,4 glikozidik bağları kırar (Bkz. Şekil 4.29).

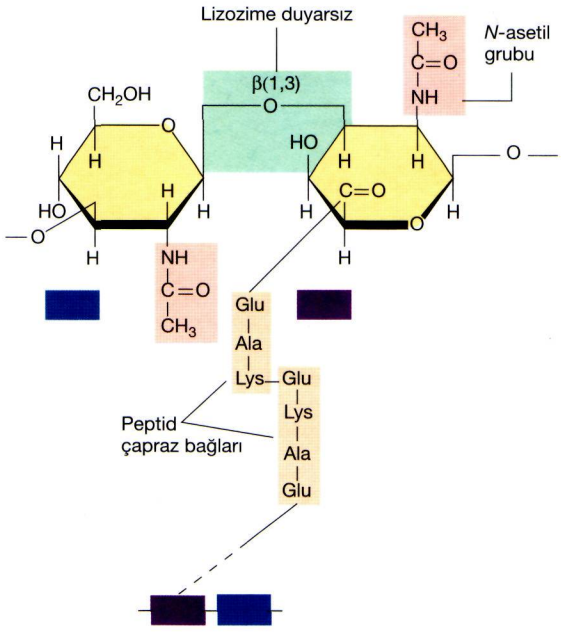
Archaea Hücrelerinde Bulunan Psödopeptidoglikan, S-Tabakaları ve Diğer Duvar Yapıları

Bazı *Archaea* türleri peptidoglikana çok benzeyen bir polisakkaritten oluşan hücre duvarlarına sahiptir. Bu materyal *psödopeptidoglikan* olarak adlandırılır (Şekil 4.33*a*●).

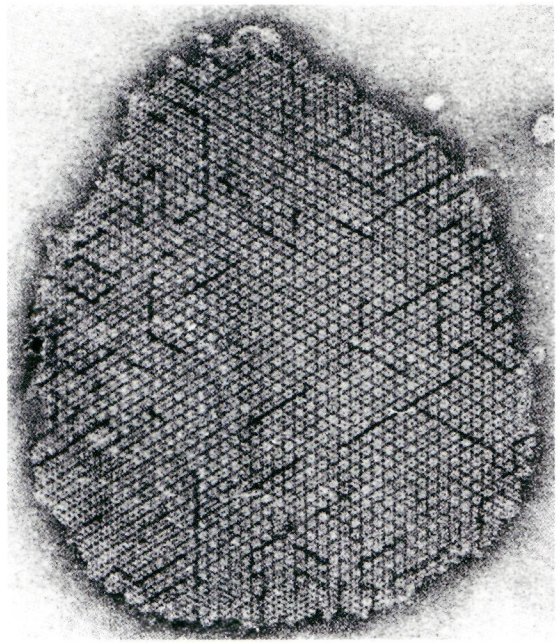
Psödopeptidoglikanın omurgası tekrarlanan N-asetilglukozamin ve N-asetiltalosaminuronik asit birimlerinden oluşur (N-asetiltalosaminuronik asit birimleri, peptidoglikanda bulunan N-asetilmuramik asitlerin yerini almıştır) (Şekil 4.29 ile Şekil 4.33a'yı karşılaştırınız). Psödopeptidoglikanı peptidoglikandan ayıran bir başka fark, peptidoglikanda bulunan β-1,4 bağları yerine β-1,3 glikozidik bağlar içermesidir (Şekil 4.29 ile Şekil 4.33a'yı karşılaştırınız).

Diğer *Archaea*'nın hücre duvarları ne peptidoglikan, ne de psödopeptidoglikan içerir. Bu tip hücre duvarlarında polisakkarit, glikoprotein ya da protein bulunur. Örneğin, *Methanosarcina* türleri glukoz, glukuronik asit, galaktozamin ve asetat içeren kalın bir polisakkarit duvara sahiptir. *Halococcus* gibi aşırı halofilik (tuz-seven) *Archaea* grupları *Methanosarcina*'ya benzer duvara sahiptir. Ancak bu duvar diğer bileşenlere ek olarak sülfat (SO_4^{-2}) kökleri içerir.

Archaea'da en sık rastlanan hücre duvarı tipi, parakristalin yüzey tabakasıdır (S-tabakası) (Bkz. Kısım 4.10). S-tabakası, protein ya da glikoprotein yapısında olup, genellikle hekzagonal simetriye sahiptir. S-tabakaları aşırı halofilik, metanogen ve hipertermofil *Archaea* gruplarına ait türler arasında yaygındır (Kısım 2.5). Bazı *Bacteria* türlerinin dış yüzeylerinde de S-tabakaları bulunur (Şekil 4.33b). *Archaea* türlerindeki hücre duvarlarının kimyasal açıdan değişik moleküller içerdiklerini gördük. Bunların bazıları peptidoglikana benzemekte, bazıları ise peptidoglikan bileşenini hiç içermemektedir. Ancak birkaç istisna dışında, *Archaea*'nın tümü bir çeşit hücre duvarı içerir ve bu duvar *Bacteria*'daki duvar gibi, hücreyi ozmotik lizizten korur ve hücre biçimini belirler. Bunlara ek olarak, *Archaea* hücre duvarı peptidoglikandan yoksun olduğu için, bu molekülü parçalayan ya da



(a)



Susan F. Koval

(b)

● **Şekil 4.33 Psödopeptidoglikan ve S-tabakaları.** (a) *Methanobacterium* türlerindeki hücre duvarı polimeri olan psödopeptidoglikan yapısı. Şekil 4.29'da gösterilen peptidoglikan yapısı ile bu yapı arasında peptid çapraz-bağlar açısından benzerlik olduğuna dikkat ediniz. Psödopeptidoglikandaki peptid çapraz-bağları N-asetil-talozaminuronik asit (NAT) kökleri arasında kurulur. NAG, N-Asetiglukozamin. (b) S-Tabakanın parakristalin yapısını gösteren transmisyon elektron mikrograf. Burada görülen S-tabaka, *Bacteria* grubuna dahil olan *Aquaspirillum serpens*'den elde edilmiş olup, *Archaea*'daki S-tabakalarda görülen hekzogonal simetriye sahiptir.

doğru olarak sentezlenmesini önleyen lizozim ve penisillin gibi ajanların etkisine karşı doğal olarak dirençlidir (Kısım 6.2).

4.8 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Bacteria hücre duvarı peptidoglikan adı verilen bir polisakkarit içerir. Bu materyal tekrarlanan N-asetilglukozamin ve N-asetilmuramik asit zincirlerinden oluşur. Zincirlerdeki N-asetilmuramik asit birimleri, kısa peptidler aracılığı ile birbirlerine bağlıdır. Organizmanın tipine bağlı olarak, birçok peptidoglikan tabakası bulunabilir. *Archaea*'daki duvar peptidoglikan yerine bir başka polisakkarit ya da protein içerir. Lizozim enzimi peptidoglikanı parçalayarak, hücrenin erimesine yol açar.

- Peptidoglikanın monomerik bileşenlerini listeleyiniz.
- Peptidoglikan neden çok sağlam bir moleküldür?
- Hücre duvarı olmayan hücreler hayatta kalmayı nasıl başarırlar?
- Psödopeptidoglikan ile peptidoglikan arasındaki benzerlik ve farklılık nedir?

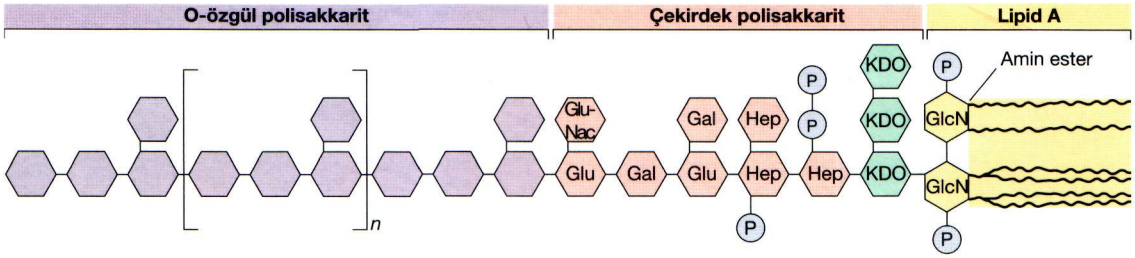
4.9 Gram-Negatif *Bacteria*'da Dış Zar

Gram-negatif *Bacteria*'da, peptidoglikana ek olarak **dış zar** adı verilen bir duvar tabakası daha vardır. Çift katlı lipidden oluşmakla birlikte bu tabaka sitoplazmik zar gibi sadece fosfolipid ve protein içermez (Şekil 4.16). Dış zar aynı zamanda polisakkarit içermektedir. Lipid ve polisakkarit dış zar içinde birbirine bağlanarak bir *lipopolisakkarit kompleksi* oluşturur. Bu nedenle dış zar genellikle **lipopolisakkarit tabakası** veya kısaca **LPS** olarak adlandırılır.

LPS'nin Kimyasal Yapısı

Karmaşık yapılı olmasına rağmen çeşitli bakterilerdeki LPS'nin kimyası ortaya çıkarılmıştır. Şekil 4.34●'de görüldüğü gibi, LPS'nin polisakkarit kısmı *çekirdek polisakkarit* ve *O-polisakkarit* olmak üzere iki bileşenden oluşur. LPS yapısı üzerinde en ayrıntılı çalışmaların yapıldığı *Salmonella* türlerinde **çekirdek polisakkarit** ketodeoksioktonat (KDO), yedi-karbonlu şekerler (heptozlar), glukoz, galaktoz ve N-asetilglukozamin içerir. Merkeze bağlı olan **O-özgül polisakkarit** tipik olarak galaktoz, glukoz, ramnoz ve mannoz gibi hekzosları ve abekuoz, kolitoz, paratoz ya da tiveloz gibi dideoksi şekerleri içerir. Bu şekerler genellikle dallanmış halde olan dört ya da beş üyeli diziler oluşturacak şekilde birbirlerine bağlıdır. Bu dizilerin tekrarı ile uzun O-polisakkarit zinciri ortaya çıkar.

O-polisakkaritin LPS'nin geri kalanı ile nasıl bir ilişki içinde olduğu Şekil 4.35●'de görülmektedir. **Lipid A** olarak adlandırılan lipopolisakkarit kısmı (Şekil 4.34) gliserol içermez. Lipid A'daki yağ asitleri amin ester bağı ile N-asetilglukozamin



● **Şekil 4.34** **Gram-negatif *Bacteria*'daki lipopolisakkarit yapısı.** Çeşitli gram-negatif *Bacteria* türlerindeki lipid A ve polisakkarit bileşenlerin kimyasal yapıları değişmekle birlikte, temel bileşenlerin sıralanışı genelde değişmeden kalır (lipidA-KDO-çekirdek-O-özgül). O-özgül polisakkarit türler arasında farklılık gösterir. KDO, ketodeoksioktonat; Hep, heptoz; Glu, glukoz; Gal, galaktoz. Amin ile lipid A'nın yağ asitleri arasındaki bağ, amin ester bağıdır. LPS'nin lipid A kısmı, *endotoksin kompleksini* oluşturur ve hayvanlarda toksik etki yapabilir (Kısım 21.12). Bu şekli Şekil 4.35 ve 4.36 ile karşılaştırınız. Şekil 4.34 ve 4.35'deki LPS'nin farklı kısımlarında kullanılan renk kodlarına dikkat ediniz.

fosfattan oluşan bir disakkarite bağlanmıştır. Bu disakkarit merkezi polisakkarite KDO aracılığı ile tutunmuştur (Şekil 4.34). Lipid A'da çoğunlukla bulunan yağ asitleri kaproik, laurik, miristik, palmitik ve stearik asitlerdir.

Dış zarda LPS çeşitli proteinlerle bir araya gelerek, zarın *dış* yaprağını oluşturur. Bazı gram-negatif *Bacteria*'daki LPS'nin içe bakan yaprağında **lipoprotein** kompleksi yer alır (Şekil 4.35a). Lipoprotein, dış zar ile peptidoglikan arasında çıpa gibi görev yapar. Dış zarın *dış* yaprağında LPS ile fosfolipidler yer değiştirir. Fosfolipidler sadece iç yaprakta bulunur (Şekil 4.35a). Dolayısıyla, dış zar çift katlı lipid olarak değerlendirilse de, bunun yapısı sitoplazmik zardan oldukça farklıdır (Şekli 4.16 ile 4.35a'yı karşılaştırınız).

Endotoksin

Dış zar esas olarak yapısal işlev üstlenmiş olmakla birlikte, bunun önemli biyolojik özelliklerinden biri hayvanlar için toksik olmasıdır. İnsanlar ve diğer memeliler için patojenik olan gram-negatif *Bacteria* cinsları *Salmonella*, *Shigella* ve *Escherichia* olup, bu patojenlerin konakçılarında ortaya çıkardığı bazı semptomlar dış zarlarının toksisitesinden kaynaklanır.

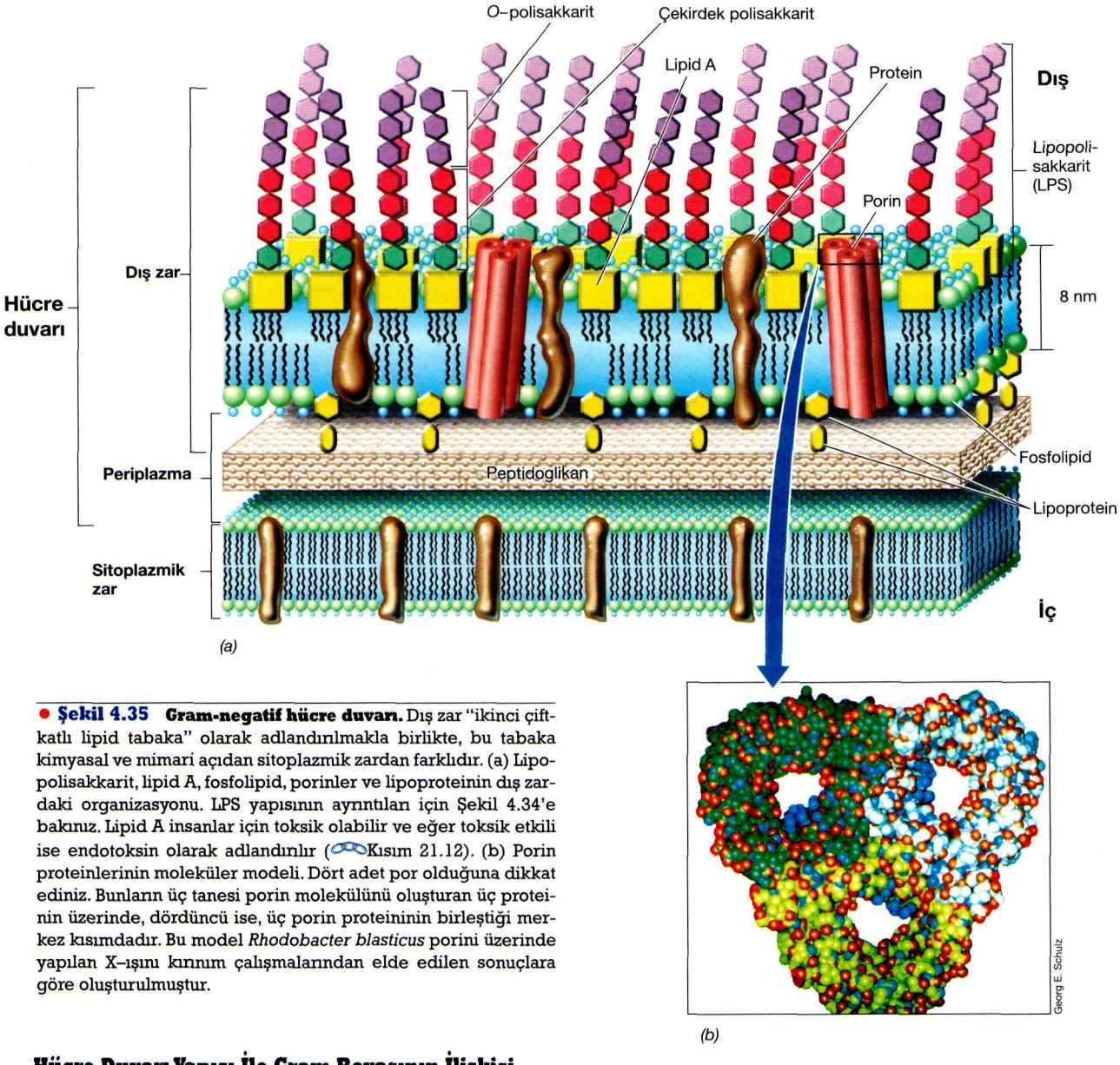
Toksik özellikler lipopolisakkarit tabakanın lipid A kısmı ile ilişkilidir. **Endotoksin** terimi LPS'nin bu toksik bileşenini ifade eder (Bu konu Kısım 21.12'de ele alınacaktır). Bazı endotoksinler insanlarda şiddetli gastroentestinal rahatsızlıklara (gaz, ishal, kusma) neden olur. Endotoksinler bir dizi bakteriyal hastalıktan sorumludur. Bunlar arasında *Salmonella*'nın neden olduğu besin enfeksiyonu özellikle önemlidir (Kısım 29.7). Patojenik olmayan bazı bakterilerdeki LPS'nin de endotoksin etkisi yaptığı gösterilmiştir. Dolayısıyla, bir organizmanın toksik dış zar bileşenleri içermesi için mutlaka patojenik olması gerekmez.

Porinler ve Periplazma

Gram-negatif *Bacteria*'nın dış zarı temel olarak çift katlı lipid yapıda olmasına rağmen, sitoplazmik zarın aksine küçük moleküllere karşı nispeten geçirgendir. Bunun nedeni dış zarda **porinler** adı verilen proteinlerin bulunmasıdır. Porinler düşük molekül ağırlıklı hidrofilik bileşiklerin girişi ya da çıkışı için kanal görevi yaparlar (Şekil 4.35). Özgül ve özgül olmayan sınıflara dahil olan farklı porinler vardır. *Özgül-olmayan porinler* küçük bileşiklerin içinden geçtiği, su ile dolu kanallar oluştururlar. Buna karşılık bazı porinler oldukça özgüldür. Bunlar tek bir bileşik ya da yapısal olarak benzer bir bileşik grubu için özgül bağlanma bölgesi içerirler. Yapısal çalışmalar birçok porinin birbirinin özdeşi üç alt birim içeren proteinler olduğunu göstermiştir. Porinler zarı kateden proteinler olup (Şekil 4.35*a*), dış zar içinde 1nm çapında küçük delikler oluşturmak üzere bir araya gelirler (Şekil 4.35*b*).

Küçük moleküller için geçirgen olan dış zar enzimlerin ve diğer büyük moleküllerin geçişine izin ver*mez*. Dış zarın temel işlevlerinden biri, sitoplazmik zarın dış tarafında bulunan proteinlerin difüze olarak hücreden kaçmalarını önlemektir. Bu proteinler **periplazma** adı verilen bir bölgede yer alırlar (Bkz. Şekil 4.35 ve 4.36). Sitaplazmik zarın dış yüzeyi ile dış zarın iç yüzeyi arasında yer alan bu bölge yaklaşık 12-15 nm genişliğindedir. Bu kısımda bol miktarda protein bulunduğu için periplazmanın içeriği jel kıvamındadır (Şekil 4.36●).

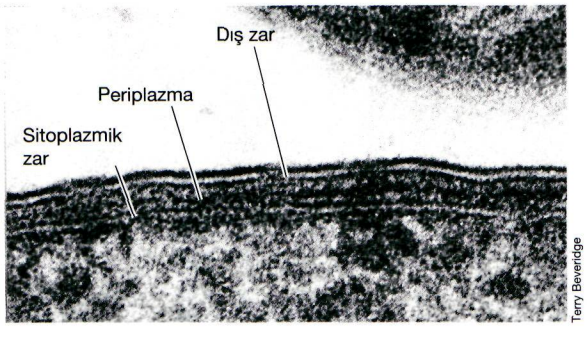
Organizmanın tipine bağlı olarak periplazmadaki proteinlerin çeşidi de değişir. Bu proteinler arasında besin moleküllerinin parçalanmasında görev alan *hidrolitik enzimler*, substratların taşınmasını başlatan *bağlayıcı proteinler* (Bkz. Kısım 4.7) ve kemotaksis cevabında iş gören *kemoreseptör* proteinler (Bkz. Kısım 4.16 ve 8.12) bulunmaktadır. Daha önce değinildiği gibi bu proteinlerin çoğu SecYEG sistemi tarafından taşınarak, periplazmaya ulaşır (Bkz. Kısım 4.7).



● **Şekil 4.35 Gram-negatif hücre duvarı.** Dış zar "ikinci çift-katlı lipid tabaka" olarak adlandırılmakla birlikte, bu tabaka kimyasal ve mimari açıdan sitoplazmik zardan farklıdır. (a) Lipopolisakkarit, lipid A, fosfolipid, porinler ve lipoproteinin dış zardaki organizasyonu. LPS yapısının ayrıntıları için Şekil 4.34'e bakınız. Lipid A insanlar için toksik olabilir ve eğer toksik etkili ise endotoksin olarak adlandırılır (Kısım 21.12). (b) Porin proteinlerinin moleküler modeli. Dört adet por olduğuna dikkat ediniz. Bunların üç tanesi porin molekülünü oluşturan üç proteinin üzerinde, dördüncü ise, üç porin proteininin birleştiği merkez kısımdadır. Bu model *Rhodobacter blasticus* porini üzerinde yapılan X-ışını kırınım çalışmalarından elde edilen sonuçlara göre oluşturulmuştur.

Hücre Duvarı Yapısı İle Gram Boyasının İlişkisi

Gram-pozitif ve gram-negatif *Bacteria*'nın duvar yapıları arasındaki farklılıkların, Gram boyama tepkimesindeki farklılıklardan sorumlu olduğu düşünülür. Gram boyama sırasında (Bkz. Kısım 4.1) hücre içinde kristal viyole-iyot kompleksi oluşur. Çözünmeyen bu kompleks, alkol ile gram-*negatif Bacteria*'dan uzaklaştığı halde, gram-*pozitif Bacteria*'da hücre içinde kalır (Bkz. Şekil 4.4). Daha önce gördüğümüz gibi, gram-pozitif *Bacteria* birkaç tabakalı peptidoglikandan oluşan çok kalın duvarlara sahiptir. Bu duvarlar alkol ile muamele sonucunda su kaybeder. Su kaybı duvardaki porların kapanmasına yol açar ve çözünmeyen kristal viyole-iyot kompleksinin hücre dışına çıkmasına engel olur. Buna karşılık gram-negatif *Bacteria*'da alkol, lipid açısından zengin dış duvardan hızla içeri girer ve kristal viyole-iyot kompleksini hücreden özütleyerek uzaklaştırır.



● **Şekil 4.36 *Escherichia coli* hücre duvarı.** *E. coli* hücre zarfının yüksek-büyütmeli ince kesit mikrografı. Şekilde periplazmik jel, dış zar ile sitoplazma zarı arasında görülmektedir. Sitoplazmadaki koyu renkli partiküller ribozomlardır.

4.8 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Gram-negatif *Bacteria* peptidoglikana ek olarak, lipopolisakkarit, protein ve lipoproteinden oluşan bir dış zar içerir. Porinler adı verilen proteinler dış zarın geçirgen olmasını mümkün kılar. Zarlar arasındaki bölge periplazma olarak adlandırılır. Periplazma önemli hücresel işlevlerde görevli çeşitli proteinleri içerir.

- Gram-negatif *Bacteria*'daki LPS tabakası hangi bileşenlerden oluşur?
- Porinlerin işlevi nedir ve bunlar gram-negatif hücre duvarının hangi kısmında yer alırlar?
- Hücrenin hangi bileşeni endotoksin özellikleri taşır?
- Alkol gram-negatif *Bacteria*'dan boyayı hemen uzaklaştırdığı halde, gram-pozitif *Bacteria*'dan uzaklaştırmaz. Bunun nedeni nedir?

III YÜZEY YAPILARI VE PROKARYOTLARDAKİ İNKLÜZYONLAR

Hücre duvarı ve bununla ilişkili yüzey tabakalarına ek olarak bazı prokaryotik hücreler çevre ile temas içinde olan dış tabakalara ve yapılara sahiptir. Bunun da ötesinde, birçok hücre bir ya da birkaç tip hücre inklüzyonu oluşturabilir. Bu inklüzyonlar daha sonra besin kaynağı olarak metabolize edilir. Bu kısımda yüzeyde ve hücre içinde yer alan bazı inklüzyonları gözden geçireceğiz.

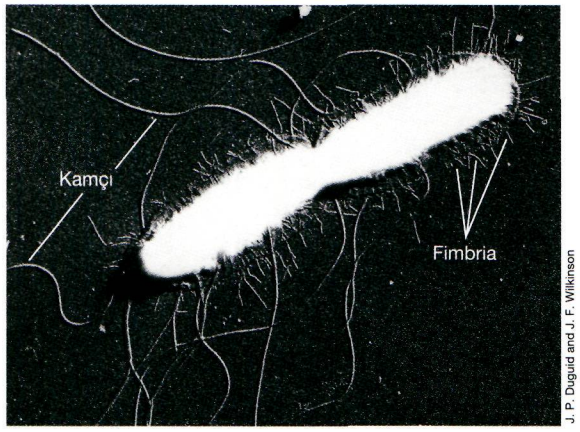
4.10 Bakteri Hücre Yüzeyi Yapıları

Prokaryotlar ya hücre yüzeyine tutunmuş ya da yüzeyden dışarıya doğru uzanmış çeşitli yapılar oluştururlar. Bunlar fimbria, pili, S-tabakaları, kapsüller ve diğer cıvık tabakalardır.

Fimbria ve Pili

Fimbria ve **pili** hücre yüzeyinden uzanan, proteinden oluşmuş filamentöz yapılardır. *Fimbria* (Şekil 4.37•) organizmaların yüzeylere yapışmasını sağlar. Bazı patojenik bakterilerin hayvan dokularına tutunması ya da yüzeylerde pelikül ve biyofilm oluşumları fimbria aracılığı ile olur (Kısım 19.3). Bu patojenler arasında *Salmonella typhimurium* (salmonellozis), *Neisseria gonorrhoeae* (gonore) ve *Bordetella pertussis* (boğmaca) bulunur.

Pili de yapısal olarak fimbriaya benzer; ancak bunlar daha uzun olup, yüzeyde sadece bir ya da birkaç tanedir. Belirli virüs tipleri için reseptör görevi yapmalarından ötürü, pili elektron mikroskopta virüs partikülleri ile kaplanmış halde görülebilirler (Şekil 4.38•). Tutunmaya da yardımcı olma iktimali olmakla birlikte, pilinin prokaryotlardaki asıl görevi konjugasyona (genetik madde alışverişinin bir çeşidi) aracılık etmektir. Konjugasyon Kısım 10.9'da ele alınacaktır.

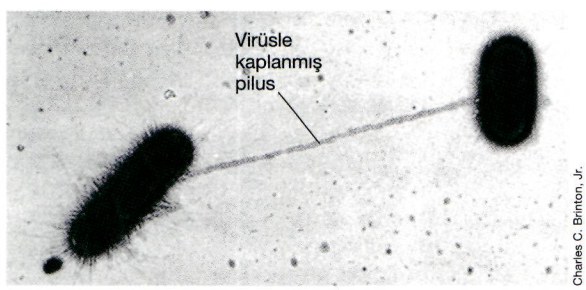


• **Şekil 4.37 Fimbria.** Bölünen bir *Salmonella typhii* hücresi üzerindeki kamçı ve fimbriayı gösteren elektron mikrograf. Tek hücrenin çapı yaklaşık 0.9μm'dir.

Yapısal ve işlevsel olarak farklı çok çeşitli fimbria/pili sınıfları vardır. Bunlardan biri olan *tip IV fimbria/pili* bazı bakterilerdeki ilginç bir hareket tarzından sorumludur. Bu tip harekette fimbria katı yüzeylerde uzayıp, kısalarak hücrenin yüzeyde sürünerek ilerlemesini sağlar. Diğer fimbriadan farklı olarak, tip IV fimbria hücrelerin sadece kutup kısımlarında bulunur ve hareketin yanı sıra, *Vibrio cholerae* (kolera) ve *Neisseria meningitidis* (bakteriyal menenjit) gibi patojenlerde konakçı kolonizasyon faktörleri olarak iş görür. Tip IV fimbrianın çeşitli bakterilerde transformasyon ile genetik madde aktarımına aracılık ettiği de düşünülmektedir (Kısım 10.7).

Parakristalin Yüzey Tabakaları

Birçok prokaryot iki boyutlu protein sırasından oluşmuş bir yüzey tabakası içerir. Bu tabakalar **S-tabakaları** olarak adlandırılır. S-tabakaları *Bacteria*'nın filogenetik gruplarını temsil eden hemen her grupta saptanmış olup, *Archaea*'da da yaygındır. Bazı *Archaea* türlerinde S-tabakası aynı zamanda hücre duvarıdır (Bkz. Kısım 4.8). S-tabakaları kristal görünümünde olup, çeşitli simetri tipleri sergiler. Protein ya da glikoprotein alt birimlerin sayı-



• **Şekil 4.38 Pili.** *Escherichia coli* hücresi üzerinde pili bulunduğu, özgüllükle pilusa tutunan virüsler kullanılarak ortaya çıkarılmıştır. Hücrenin çapı yaklaşık 0.8μm'dir.

sına ve yapısına bağlı olarak hekzagonal, tetragonal ya da trimetrik simetrileri bu yapı içinde görmek mümkündür (bir S-tabakanın elektron mikrografını görmek için şekil 4.33b'ye bakınız).

S-tabakaların temel işlevinin ne olduğu bilinmemektedir. Bununla birlikte hücre ile onun çevresi arasında yer almasından ötürü S-tabaka muhtemelen seçici bir elek gibi işlev görmekte ve küçük molekül ağırlığına sahip bileşiklerin geçişine izin verirken, büyük molekül ve yapıları (virüsler gibi) dışarıda bırakmaktadır. Dolayısıyla S-tabaka, proteinleri hücreye yakın konumda tutma işlevi görmekte ve bu açıdan gram-negatif bakterilerdeki dış zara benzemektedir. S-tabakaları içeren patojenik bakterilerde bu yapının konakçının bazı savunma mekanizmalarına karşı koruyucuk sağlayabildiğine ait kanıtlar vardır.

Kapsüller ve Cıvık Tabakalar

Birçok prokaryotik organizma, yüzeylerine cıvık ya da yapışkan maddeler salgılar (Şekil 4.39●). Bu yapılardan bazıları polisakkarit, az bir kısmı ise proteinden yapılmıştır. Bu polisakkarit tabakaları tanımlamak için sıklıkla kullanılan terimler **kapsül** ve **cıvık tabaka**'dır. Bu tabakaların bileşimi organizmanın tipine göre değişir ve kimyasal özelliğine bağlı olarak ince ya da kalın, sert ya da esnek olabilir. Sert olan tabakalar, örneğin hint mürekkebi gibi küçük partikülleri dışarıda tutan sulu bir matriks şeklinde organize olurlar. Bu yapı *kapsül* olarak adlandırılır (Şekil 4.39a). Eğer yapı daha kolay deforme olabiliyorsa, partikülleri dışarıda tutamaz. *Cıvık tabaka* olarak adlandırılan bu yapıyı gözlemlemek çok daha güçtür.

Bakterilerdeki polisakkarit tabakaların çeşitli işlevleri vardır. Yüzey polisakkaritleri mikroorganizmaların katı yüzeylere tutunmasına yardımcı olur. Daha ileride (Kısım 21.6) göreceğimiz gibi, özgül rotaları izleyerek hayvan vücuduna giren patojenik mikroorganizmalar, öncelikle konakçı dokularının yüzey bileşenlerine özgüllükle bağlanarak, bu girişi gerçekleştirirler. Bu bağlanmalar genellikle bakteri hücresinin yüzey polisakkaritleri aracılığı ile sağlanır. Patojen olmayan bakterilerin çoğu da doğadaki katı yüzeylere bu şekilde bağlanarak, **biyofilm** adı verilen kalın bir hücre tabakası oluşturur. Biyofilmlerin oluşumunda polisakkaritler önemli rol oynarlar (Kısım 19.3).

Cıvık tabakaların başka rolleri de vardır. Örneğin kapsüllü patojenik bakteriler bağışıklık sisteminin fagositik hücreleri tarafından daha zor tanınır (Kısım 22.2). Dıştaki polisakkarit tabakaları çok miktarda su bağladığı için, bu tabakalar muhtemelen kurumaya karşı direnç gösterilmesinde de rol oynarlar.

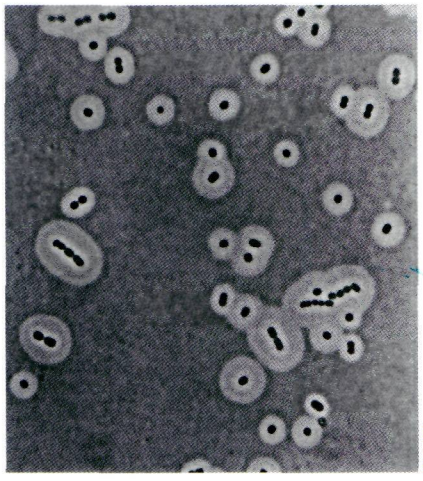
4.10 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Prokaryotik hücreler çeşitli yüzey yapıları içerirler. Bunlar arasında fimbria ve pili, S-tabakaları, kapsüller ve cıvık tabakalar vardır. Bu yapıların çeşitli işlevleri vardır. Bu işlevlerin en önemlisi hücrelerin katı yüzeylere tutunmasını sağlamaktır.

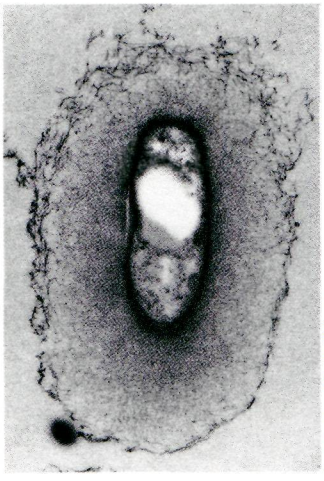
- Fibria ile pili arasındaki yapısal ve işlevsel farklılıklar nelerdir?
- S-tabakaları lipid içermediği halde dış zara benzer bir rol oynarlar. Bunu nasıl başardıklarını açıklayınız.

4.11 Hücre İnklüzyonları

Hücre içinde sıklıkla granüller ya da diğer inklüzyonlar görülür. Bunların niteliği farklı organizmalarda değişiklik göstermekle birlikte, bunlar genellikle enerji rezervleri ya da yapısal birimlerin deposu olarak işlev görürler. İnklüzyonlar ışık mikroskobu ile doğrudan görülebilirler (Bkz. Şekil 4.41). Hücresel inklüzyonların birçoğu, lipidden oluşmuş *birim yapıda olmayan* ince bir zarla çevrilidir. Bu zar, inklüzyonu sitoplazmadan ayırır.



(a)



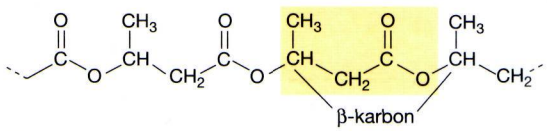
(b)

● **Şekil 4.39 Bakteriyal kapsüller.** Hint mürekkebi (india ink) ile negatif boyanmış *Acinetobacter* türlerinde faz-kontrast mikroskop ile gözlenen kapsül. Hint mürekkebi kapsül içine nüfuz etmediği için, bu yapı koyu renkli zemin üzerinde açık renkli lekeler halinde görülür. (b) Kapsülü görünür hale getirmek için rutenyum kırmızısı ile boyanmış bir *Rhizobium trifolii* hücresine ait ince kesitin elektron mikrografi. Hücrenin çapı (kapsül hariç) yaklaşık 0.7μm'dir. Kapsüllerin çoğu polisakkarit yapısında olmakla birlikte, bazı bakteriler protein yapısında olan kapsüller içerir. Örneğin *Bacillus anthracis* hücreleri (bu organizma hayvanlarda hastalık yapar ve biyolojik silah olarak kullanılır; Kısım 25.12 ve 25.13) poli-D-glutamik asit yapısında bir kapsül içerir. Bu kapsül hücreyi, konakçının savunma sistemine karşı korur.

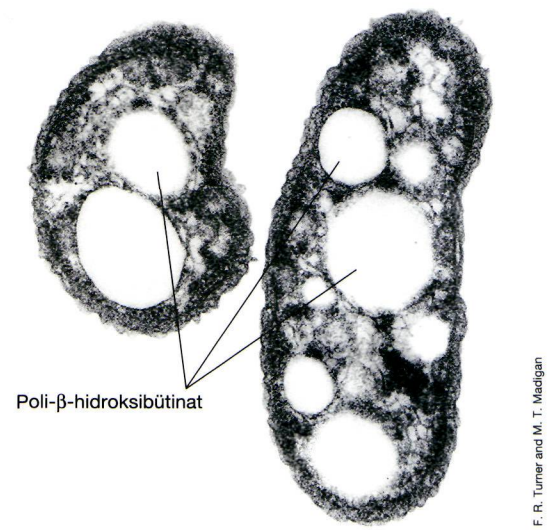
Karbon Deposu Olan Polimerler

Prokaryotik organizmalarda en yaygın olarak bulunan inklüzyon cisimleri **poli-β-hidroksibütirik asitten (PHB)** oluşmuşlardır. Bu polimer β-hidroksibütirik asit birimlerinden oluşur (Şekil 4.40*a*●). Bu asidin monomerleri uzun PHB polimerini oluşturmak üzere ester bağlarıyla bağlanırlar. Bu şekilde oluşan polimerler granüller içinde bir araya gelirler (Şekil 4.40b). Polimeri oluşturan monomerlerin sayısı büyük ölçüde değişkenlik gösterebilir ve C_4 kadar kısa olabildiği gibi, bazı organizmalarda C_{18} uzunluğunda da olabilir. Bu nedenle karbon/enerji deposu olan bu polimer sınıfını tanımlamak için daha genel bir terim olan *poli-β-hidroksialkanoat* (PHA) kullanılmaktadır. PHA'lar karbon fazlalığında sentezlenirken, biyosentez için karbon omurgaları olarak kullanılmak üzere ya da acil durumlarda ATP yapmak için yıkılırlar. *Bacteria* ve *Archaea* içinde yer alan türleri de içeren pek çok prokaryot PHA'ları üretir.

Prokaryotlar tarafından oluşturulan bir başka depo ürün, bir glukoz polimeri olan **glikojen**dir (Kısım 3.3 ve Şekil 3.6). PHA'lar gibi glikojen de karbon ve enerji için bir depo niteliğindedir. Glikojen çevrede karbon fazlalığı olduğunda oluşturulur, karbon kısıtlı hale geldiğinde tüketilir. Glikojen bitkilerdeki temel depo maddesi olan nişastaya benzer; ancak, glukoz birimlerinin birbirlerine bağlanma biçimi açısından nişastadan farklıdır (Bkz. Şekil 3.6*b*).



(a)



(b)

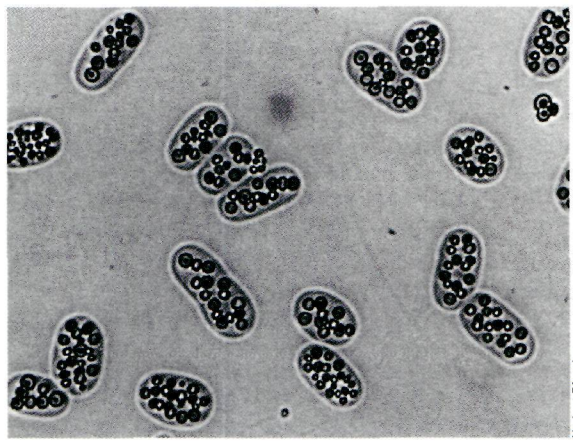
● **Şekil 4.40 Poli-β-hidroksibütirat (PHB).** Yaygın olarak bulunan bir poli-β-hidroksialkanoat olan PHB'nin yapısı. Monomerik birim renkli olarak gösterilmiştir. β-karbon üzerindeki -CH_3 grubunun daha uzun zincirli hidrokarbonlarla yer değiştirmesiyle, başka alkanoat polimerleri oluşturulur. (b) Fototrofik bir bateri olan *Rhodovibrio sodomensis* hücrelerindeki PHB granüllerini gösteren ince kesit elektron mikrografı.

Diğer Depo Maddeleri ve İnklüzyonlar

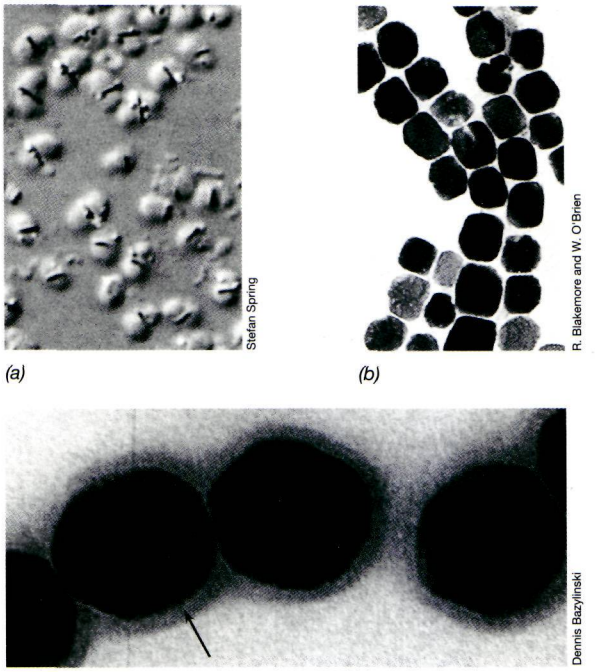
Birçok mikroorganizma inorganik fosfatı **polifosfat** granülleri halinde biriktirir. Bu granüller nükleik asit ve fosfolipid için fosfat kaynağı olarak kullanılmak üzere yıkılır. Buna ek olarak birçok prokaryot hidrojen sülfür (H_2S) gibi redükte kükürt bileşiklerini oksitleme yeteneğine sahiptir. Bu oksidasyonlar ya enerji metabolizmasındaki (Kısım 17.8 ve Kısım 17.10) ya da biyosentezdeki (Kısım 17.6) tepkimelerle bağıntılıdır. Her iki durumda da **elementer kükürt**, kolayca fark edilebilen kürecikler halinde hücre içinde biriktirilebilir. Elementer kükürt taneleri redükte kükürt kaynağı bulunduğu sürece hücrede varlığını sürdürür. Ancak redükte kükürt kısıtlı hale gelmeye başladığında, granüller içindeki kükürt sülfata (SO_4^{-2}) oksitlenir ve tepkime süreci içinde granüller kaybolur.

Aslında kükürt kürecikleri *sitoplazma*da yerine, *periplazma*da yer alır (kükürt oksitleyen fototrofik ya da kemolitotrofik prokaryotlar gram-negatif organizmalardır). H_2S oksitlenirken ($H_2S \rightarrow S^0$) globüllere yer açmak için periplazma dışarıya doğru genişler. Kükürt oksitlendiğinde ($S^0 \rightarrow SO_4^{-2}$), periplazma tekrar içeri doğru küçülür. Gram-negatif bakterilerin "sitoplazması içinde" yer alan diğer inklüzyonların da periplazmik olabileceği düşünülmektedir. En azından poli-β-hidroksialkanoatların bu kategoride olduğu görülmektedir (Bkz. Şekil 4.40).

Magnetozomlar hücre içinde yer alan ve bir demir minerali olan magnetit (Fe_3O_4) içeren partiküllerdir (Şekil 4.42●). Magnetozomlar hücreye manyetik kutuplar kazandırır ve onun manyetik alana tepki vermesini sağlar. Magnetozomlar oluş-



● **Şekil 4.41 Kükürt kürecikleri.** Mor kükürt bakterisi olan *Isochromatium buderi* hücrelerinin aydınlık-alan mikrografı. Hücre içindeki kükürt küreciklerine dikkat ediniz. Bu kürecikler hidrojen sülfürün (H_2S) oksidasyonu ile oluşmuştur. Tek bir hücrenin büyüklüğü yaklaşık 4×7 μm'dir.



(a) (b) (c)

● **Şekil 4.42 Magnetotaktik bakteriler ve magnetozomlar.** (a) Kok şeklindeki magnetotaktik bakterilerin intereferens kontrast mikrografı. Magnetozomlara dikkat ediniz. Hücre çapı yaklaşık 2.2μm'dir. (b) Magnetotaktik bir bakteri olan *Magnetospirillium magnetotacticum*'dan izole edilmiş olan magnetozomlar. Her parçacık yaklaşık 50nm uzunluğundadır (Şekil 12.32). (c) Magnetik bir koktan elde edilmiş magnetozonların transmisyon elektron mikrografı. Ok, magnetozomu çevreleyen zarı işaret etmektedir. Her magnetozomun genişliği yaklaşık 90nm'dir. Magnetozom zarı lipid ve protein içermekle birlikte, PHB zara benzer şekilde (Bkz. Şekil 4.40) tek katlı olup, gerçek bir "ünit" zar değildir.

turan bakteriler (Şekil 4.42a) *magnetotaksis* gösterir. Magnetotaksis yerkürenin manyetik alan hatlarına göre konumlanmak ve buna göre hareket etmek demektir (Kısım 12.14). Her ne kadar *magnetotaksis* sözcüğü içinde *taksis* eki yer alsa da, mangnetotaktik bakterilerin kemotaktik ya da fototaktik bakterilerin kullandığı algılama sistemlerini kullandığına ilişkin bir kanıt yoktur. (Bkz. Kısım 4.16 ve 8.12). Bunun yerine, magnetozomların hücre içinde sıralanması, hücreye manyetik özellikler kazandırır ve onu belirli bir yöne doğru konumlandırır.

Magnetozomların asıl görevinin ne olduğu bilinmemektedir. Bununla birlikte magnetozomlar düşük O_2 konsantrasyonlarında çok iyi gelişen çeşitli akuatik *Bacteria*'da bulunmuştur (Şekil 4.42a). Bu nedenle magnetozomların bir işlevinin de, akuatik hücreleri O_2 düzeyinin az olduğu sedimentlere doğru yönlendirmek olduğu varsayılmaktadır.

Magnetozomlar fosfolipid, protein ve glikoprotein içeren bir zarla çevrilidir (Şekil 4.42b, c). Bu zar, sitoplazmik zar yapısında gördüğümüz ünit yapıda olmayıp (Şekil 4.16), poli-β-hidroksibütirat granüllerini (PHB, Şekil 4.40) çevreleyen zara benzer. Magnetozom zarındaki proteinler muhtemelen Fe^{+3}'ün gelişmekte olan magnetozoma Fe_3O_4 halinde çökelmesinde rol oynar (Fe^{+3} kelat yapan ajanlar aracılığı ile hücre içine getirilir). Magnetozom morfolojisinin türe-özgü olduğu görülür ve kare, dikdörtgen ya da sivri uçlu şekillere sahip olabilen bu yapılar hücre içinde zincirler oluştururlar (Şekil 4.42).

4.11 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Prokaryotik hücreler kükürt, fosfat, PHA'lar ve magnetozomlar gibi hücre-içi granüller içerirler. Bu bileşikler depo maddeleri olarak ya da magnetotaksisde işlev görürler.

- PHA'ların ya da glikojenin ne tip üreme koşulları altında sentezlenmesini beklersiniz?
- *Gram-pozitif* bakterilerin kükürt-oksitleyen kemolitotroflar gibi kükürt depolaması olanaksızdır. Bunun nedeni nedir?
- Magnetozomlarda bulunan demir hangi formdadır?

4.12 Gaz Vezikülleri

Birkaç prokaryotik organizma *planktonik* olup, göl ve okyanus suları içinde yüzer. Planktonik prokaryotların birçoğu **gaz vezikülleri** oluşturur. Bu yapılar hücrelerin dansitesini düşürerek, yüzmelerini mümkün kılar. Gaz vezikülleri, hücrelerin su ortamı içinde çevresel etmenlere cevap olarak aşağı ya da yukarı doğru yüzmelerini sağlayan bir hareket biçimidir.

Gaz veziküllerinin neden olduğu en çarpıcı olaylar, göllerde büyük birikinti kitleleri oluşturan siyanobakterilerde görülür (Şekil 4.43●). Gaz vezikülleri içeren hücreler göl yüzeyine yükselir ve rüzgârla sürüklenerek, büyük kütleler oluşturur. Gaz vezikülleri göl ve havuzlarda yaşayan bazı mor ve yeşil fototrofik bakterilerde (Kısım 12.2 ve 12.32) ve fototrofik-olmayan çeşitli bakterilerde de bulunur. Bazı *Archaea* türleri de gaz vezikülleri içerir.

● **Şekil 4.43 Doğadaki gaz vezikülleri.** Madison, Wisconsin'daki Mendota Gölü'nün zengin besin maddeleri içermesi nedeniyle aşırı ölçüde çoğalan ve yüzeyi kaplayan gaz veziküllü siyanobakteriler.

● **Şekil 4.44 İzole edilmiş gaz vezikülleri.** *Ancyclobacter aquaticus* bakterisinden saflaştırılarak, negatif boyanmış preparaflarda incelenen gaz veziküllerinin transmisyon elektron mikrografları. Tek bir gaz vezikülünün çapı yaklaşık 100nm'dir. [Archives of Microbiology 112: 133-140 (1977)'den izin alınarak kullanılmıştır.]

Gaz Veziküllerinin Yapısı

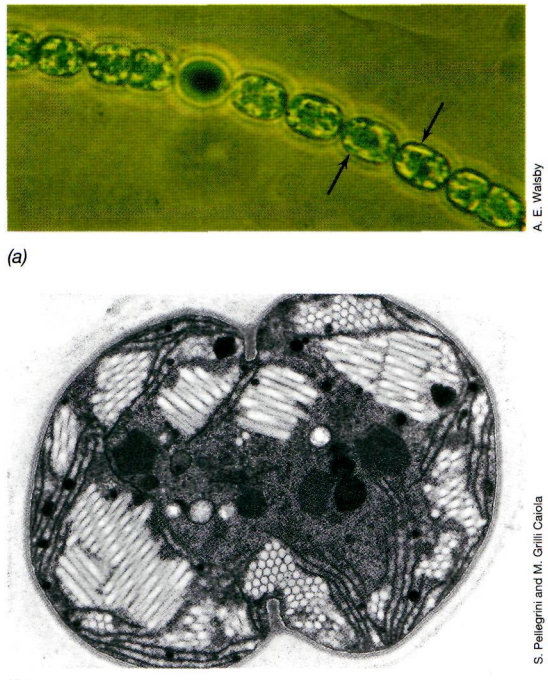
Gaz vezikülleri içleri gaz ile dolu, proteinden yapılmış mekik şeklindeki yapılardır. İçleri boş ama, sert yapılar olup değişik boy ve çaptadırlar. (Şekil 4.44●). Çeşitli organizmalardaki gaz veziküllerinin boyu 300-1000nm, genişliği ise 45-120nm arasında değişmekle birlikte, belirli bir organizmadaki gaz veziküllerinin boyutları az çok sabittir.

Hücre içindeki gaz vezikülü sayısı birkaç tane olabildiği gibi, yüzlerce de olabilir. Gaz vezikülünün zarı protein yapısında olup, yaklaşık 2nm kalınlığınadır. Bu zar suya ve çözünenlere karşı geçirgen olmamakla birlikte, gazlara karşı geçirgendir. Hücrelerdeki gaz vezikülleri ya ışık mikroskobu (*gaz vakuolleri* olarak adlandırılan şekilsiz, parlak inklüzyonlar halindeki vezikül salkımları), ya da elektron mikroskobu ile gözlenebilir (Şekil 4.45●).

Gaz Veziküllerinin Moleküler Yapısı

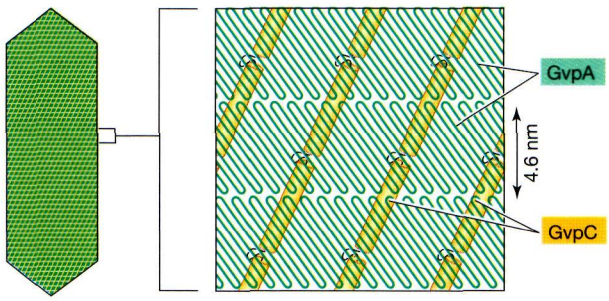
Gaz vezikülleri iki farklı proteinden oluşur (Şekil 4.46●). Gaz vezikülündeki temel protein olan *GvpA*, küçük, yüksek derecede hidrofobik ve sert yapılıdır. Gaz vezikülünün sert bir zara sahip olması, bu yapının dışarıdan gelecek baskılara karşı direnebilmesi için gereklidir. GvpA, gaz vezikülünün kabuğunu oluşturur ve veziküldeki toplam proteinin %97'si bu proteinden ibarettir. *GvpC* olarak adlandırılan minör protein, gaz vezikülü kabuğunu güçlendirmekle görevlidir (Şekil 4.46).

Gaz vezikülleri, suyun geçişine izin vermeyen paralel "çubuklar" oluşturacak şekilde sıralanmış GvpA proteini kopyalarından oluşur. GvpA çubukları GvpC tarafından güçlendirilir. Bu protein, birçok GvpA proteinini kıskaç gibi birbirine bağlar (Şekil 4.46). Gaz vezikülünün sonuçta kazandığı biçim farklı organizmalarda ince uzun ya da kısa ve küt olacak şekilde değişiklik gösterir (Şekil 4.44 ile 4.45b'yi karşılaştırınız). Biçimdeki bu farklılık, GvpA ve GvpC proteinlerinin tamamlanmış vezikülü oluştururken nasıl düzenlendiklerine bağlıdır.



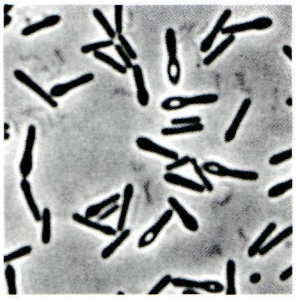
● **Şekil 4.45 *Anabaena* ve *Microcystis* siyanobakterilerinin gaz vezikülleri.** (a) *Anabaena flos-aquae*. Ortadaki koyu renkli hücre (hetorosist) gaz vezikülü içermemektedir. Diğer hücrelerdeki veziküller parlak gaz vaküolleri halinde bir araya gelmiş haldedir. (oklar). (b) *Microcystis* siyanobakterisinin transmisyon elektron mikrografı. Gaz vezikülleri demetler halinde düzenlenmiştir.

Gaz vezikülünün zarı gazların serbestçe geçişine izin verdiği için, vezikül içindeki gaz karışımı ve basıncı, organizmanın asılı olduğu gaz ile aynıdır. Gaz vezikülünün dansitesi hücre dansitesinin yaklaşık %5-20'si kadar olduğundan örtürü, gaz vezikülleri hücrenin dansitesini düşürür ve böylece onun yüzme yeteneğini artırır. Özellikle akuatik fototrofik organizmalar bu durumdan yararlanır; çünkü bu özellik onların su içinde fotosentez için gereken ışık şiddetinin en uygun olduğu bölgelerde dikey pozisyonda konumlanabilmelerine olanak sağlar.

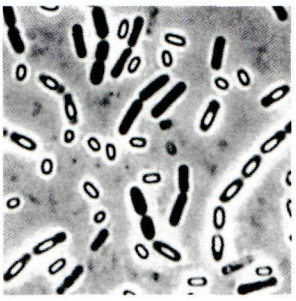


● **Şekil 4.46 Gaz vezikülü proteinleri.** Gaz vezikülünü oluşturan GvpA ve GvpC'nin su geçirmeyen ama gaza geçirgen olan yapıyı oluşturmak üzere nasıl etkileştiklerini gösteren model. GvpA kaburgayı oluşturur ve sert β-tabakadır. GvpC α-heliks yapıda olup, çapraz bağları kurar. (Kısım 3.7 ve Şekil 3.16)

(a)



(b)



(c)

● **Şekil 4.47 Bakteriyal endospor.** Çeşitli endospor tiplerini ve endosporların hücre içendeki yerleşimlerini gösteren faz kontrast fotomikrografları. (a) Terminal. (b) Subterminal. (c) Merkezi.

4.12 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Gaz vezikülleri proteinden yapılmış, içleri gaz dolu, küçük yapılar olup, hücreye yüzme özelliği kazandırma işlevini görürler. Gaz vezikülleri gaza karşı geçirgen olduğu halde, suyu geçirmeyen yapılar oluşturacak şekilde düzenlenmiş iki farklı protein içerirler.

- Gaz vezikülleri fototrofik hücrelere nasıl bir yarar sağlar? (İpucu: Fototroflar gelişmek için neye gereksinim duyarlar?)
- Gaz vezikülünün yapısını kuran iki protein olan GvpA ve GvpC, suya geçirgen olmayan bu yapıyı oluşturmak için ne şekilde düzenlenmişlerdir?

4.13 Endosporlar

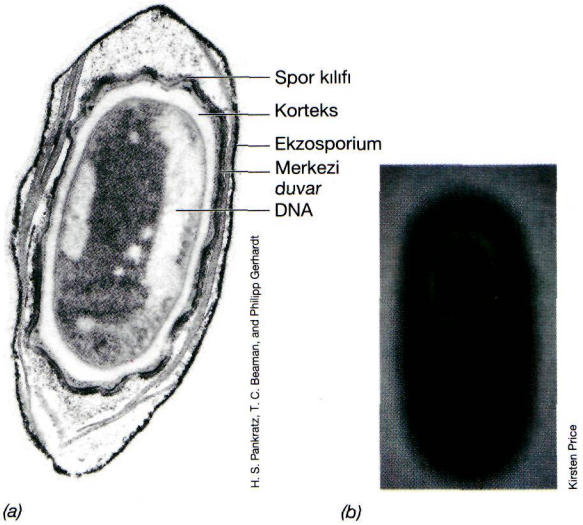
Bazı *Bacteria, sporulasyon* adı verilen bir süreç sırasında **endospor** adı verilen yapılar üretir (Bkz. Şekil 4.50). Endosporlar ("endo" öneki "içinde" anlamını taşır) ısıya çok dayanıklı olup, kuvvetli kimyasallar ve radyasyon muamelesi ile bile parçalanması çok güç olan farklılaşmış hücrelerdir. Endosporların biyolojik işlevi hiç kuşkusuz, organizmanın aşırı sıcaklık, kuruma ve besin yokluğu gibi zor koşullara dayanmasını sağlamaktır. Endosporlar rüzgâr, su ya da hayvanların sindirim sistemi aracılığı ile yayılabilen ideal yapılardır. Endospor-oluşturan bakteriler toprakta çok yaygın olarak bulunur. *Bacillus* ve *Clostridium*, üzerinde en çok çalışılmış endospor-oluşturan bakteri gruplarıdır.

Bakteriyal endosporların keşfedilmesi mikrobiyolojide büyük önem taşır; çünkü bu formların ısıya çok dayanıklı olduklarının öğrenilmesi, sadece kültür ortamlarının değil gıdaların ve diğer dayanıksız ürünlerin sterilizasyonu için uygun yöntemlerin geliştirilmesini zorunlu kılmıştır. Birçok mikroorganizma spor oluşturmakla birlikte, bakteriyal endospor dayanıklı olduğu sıcaklık derecesi açısından çok özel bir yere sahiptir. Birçok türün endosporları 121°C'de çalışan otoklavda ölmekle birlikte, çok dayanıklı bakteriyal endosporlar 150°C gibi yüksek sıcaklıklarda hayatta kalırlar. Endosporlar susuzluk, ultraviyole radyasyonu, kuvvetli asit ya da bazlar ve kimyasal dezenfektanlar gibi diğer zararlı ajanlara karşı da dayanıklı olup, çok uzun süreler dormant halde kalabilirler (Bkz. Mikrobiyal Ek Bilgi, Bir Endospor Ne Kadar Süre Canlı Kalabilir?).

Endospor Yapısı

Endosporlar ışık mikroskobu altında ışığı kuvvetle yansıtan yapılar olarak görünürler (Bkz. Şekil 4.47). Endosporlar birçok boyaya karşı geçirgen değildir. Metilen mavisi gibi bazik boyalarla boyanmış hücrelerdeki endosporlar, boyanmamış bölgeler olarak görünürler. Endosporların boyanması için özel boyama işlemlerinin uygulanması gerekir.

Elektron mikroskopta görülen endospor yapısı, vejetatif hücre yapısından çok farklıdır (Şekil 4.48●). Endospor, vejetatif hücrede bulunmayan pek çok tabaka içerir ve daha kompleks bir yapıya sahiptir. En dıştaki tabaka ince kılıf şeklindeki



(a) (b)

● **Şekil 4.48 Bakteriyal endospor diseksiyonu.** (a) *Bacillus megaterium* olgun endosporunun transmisyon elektron mikrografi. (b) Sporulasyon aşamasındaki *Bacillus subtilis* hücresinin floresan fotomikrografı. Yeşil görülen alan, spor kılıfındaki sporulasyon proteinini özgüllükle boyayan boyadan kaynaklanmaktadır.

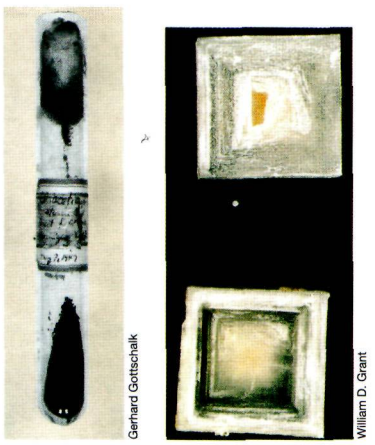
Mikrobiyal Ek Bilgi ◆ Bir Endospor Ne Kadar Süre Canlı Kalabilir?

Bu bölümde bakteriyal endosporların dormansi ve dirençlik özelliklerini tartıştık ve endosporların uzun süreler boyunca dormant halde kalabileceklerine işaret ettik. Ama bu sürenin *uzunluğu* ne kadardır?

Endosporun ömrü ile ilgili kanıtlar bu yapıların en az onlarca yıl ve muhtemelen bundan çok daha uzun süreler boyunca canlı (yani vejetatif hücre oluşturma yeteneğinde) kalabileceklerini göstermektedir. *Clostridium aceticum* bakterisinin 1947 yılında hazırlanmış bir endospor süspansiyonu 1981 yılında yani 34 yıl sonra steril üreme ortamına aktarılmış ve 12 saatten az bir süre içinde üremeye başlayarak, yoğun bir kültür oluşturmuştur. *Clostridium aceticum* ilk kez 1940 yılında Alman araştırıcı K.T. Wieringa tarafından izole edilmiş ve Berkeley'deki California Üniversitesi'nin saklama odasında *C. aceticum* endosporlarını içeren şişe bulunana kadar kayıp olduğu düşünülmüştü[1]. *C. aceticum* $CO_2 + H_2$ ya da glukozdan asetat yapma yeteneğine sahip bir homoasetogendir (Kısım 17.16).

Çok daha uzun süreler canlı kalabilen başka endospor örnekleri olduğu da bildirilmiştir. *Thermoactinomyces* cinsundaki spor oluşturan termofilik bakteriler topraktaki ot yığınları ya da çürümekte olan bitki materyalleri içinde bulunurlar. İngiltere'de bulunan ve 2000 yıl öncesine ait olduğu saptanan arkeolojik Roma kalıntılarında yapılan mikrobiyolojik incelemede, çeşitli kalıntı parçaları içinde çok sayıda canlı *Thermoactinomyces* endosporu olduğu görülmüştür. Minnesota'da yedi bin yıldan daha yaşlı olduğu bilinen bir gölden alınan çökelti fraksiyonlarında *Thermoactinomyces* endosporları bulunmuştur. Bu gibi çalışmalarda her zaman bir kontaminasyon olasılığı olmasına rağmen, bu iki durumda da örneklerin kontamine olmasını önleyecek önlemler alınmıştır[2].

Hangi etmenler bir endosporun ömrünü kısaltabilir? Kozmik radyasyonun temel etmen olabileceği düşünülmektedir; çünkü radyasyon DNA'da mutasyonlar ortaya çıkarır[2]. Binlerce yıl boyunca kozmik radyasyona maruz kalan bir organizma genomunda –bu organizma endosporlar gibi radyasyona karşı aşırı ölçüde dirençli bir yapı olsa bile- çok sayıda mutasyon birikeceği varsayılmaktadır. Bununla birlikte, doğal radyasyonun endosporlar üzerindeki etkisini değerlendirmek için yapılan deneyler, endospor süspansiyonlarının kozmik radyasyondan korunacak şekilde, örneğin organik madde tabakaları içine gömülü olması gibi durumlarda, yüz binlerce yıl ve belki de daha uzun süreler canlı kalabileceğini göstermiştir. Bu, gerçekten hayret verici bir durum olmakla birlikte, en üst limit bu mudur?



(a) (b)

Şekil 1 Endosporların ömür uzunluğu. *(a) Clostridium aceticum bakterisinden 7 Mayıs 1947'de hazırlanan endosporları içeren tübün fotoğrafı. Otuz yıldan fazla bir süre dormant halde kaldıktan sonra, kültür ortamında süspande edilen endosporlar 12 saat içinde üremiştir. (b) Tuz kristalleri içinde hapsolmuş halofilik bakteriler. Çapları yaklaşık 1 cm olan bu kristaller, içlerindeki canlı Halobacterium akterileri varlığında haboratuvarda büyütülmüştür. Bu kristallere benzeyen, ancak perm dönemine ait olan kristallerin de endospor oluşturan canlı halofilik bakteriler içerdiği rapor edilmiştir.*

Bir grup bilim adamı 1995 yılında 25-40 milyon yıl yaşında olduğunu iddia ettikleri bakteriyal endosporların canlı olduğunu rapor etmişlerdir[3]. Bu endosporların jeolojik yaşı bilinen bir amber içinde korunmuş ve soyu tükenmiş bir arının sindirim kanalında korunmuş olduğu iddia edilmiştir. Endospor oluşturan bakterilerin bu arılarda bulunabileceği, böceğin sindirim kanalı üzerinde yapılan elektron mikroskobi çalışmaları ile ihtimal dahiline gelmiştir. Bu çalışmalarda böceğin sindirim kanalında endospor-benzeri yapılara rastlanmış ve böcekten *Bacillus*-benzeri DNA elde edilmiştir. Ardan alınan doku örnekleri steril bir kültür ortamında inkube edilmiş ve inanılmaz bir hızla endospor-oluşturan bakteriler üremiştir. Endospor oluşturan bu bakterilerin günümüzde yaşamakta olan bakterilerin kontaminasyonu ile değil de gerçekten amber içinde hapsolmuş endospor oluşturan bakteriler olduğunu göstermek için çok sıkı önlemler alınmıştır. Daha da çarpıcı olan bir başka iddia, 250 milyon yıldan daha yaşlı olan ve Perm dönemine ait tuz kristalleri içine hapsolmuş sıvı inklüzyondan endospor-oluşturan halofilik (tuzcul) bakterilerin izole edilmiş olmasıdır[4]. Bu hücreler muhtemelen kristal içindeki tuzlu suda hapsolmuş (Şekil 1b) ve çeyrek milyar yıl boyunca canlı kalabilmiştir!

Endosporların ömür uzunluğu ile ilgili inanılması güç bu iddialar, bağımsız laboratuvarların tekrarlanan sonuçları ile desteklenirse (bu tip doğrulamalar, oldukça tartışmalı olan bu türlü bulgular için büyük önem taşır), uygun koşullarda saklanmış olan endosporlar sonsuza kadar canlı kalabiliyor demektir. Endosporlara ait bu hayret verici delil nispeten kısa dönemlerde canlı kalabilmek için evrimleştiği kuşku götürmeyen böyle bir yapının, milyonlarca olmasa bile, yüz binlerce yıl dormanside kalabilecek bir yapıya dönüştüğünü göstermektedir. ■

[1]Braun M., F. Mayer, and G. Gottschalk. 1981. *Clostridium aceticum* (Wieringa), a microrganism producing acetic acid from molecular hydrogen and carbon dioxide. Arch. Microbiol. 128:288-293.
[2]Gest R.J., and J. Mandestam. 1987. Longevity of microorganism in natural environments. Microbiol. Sci. 4:69-71.
[3]Cano, R.J., and M.K. Borucki. 1995. Revival and identification of bacterial spores in 25 to 40 million-year-old Dominican amber. Science 268:1060-1064.
[4]Vreeland, R.H., W.D. Rosenzweig, and D.W. Powers. 2000. Isolation of a 250 million-year-old halotolerant bacterium from a primary salt crystal. Nature 407:897-900.

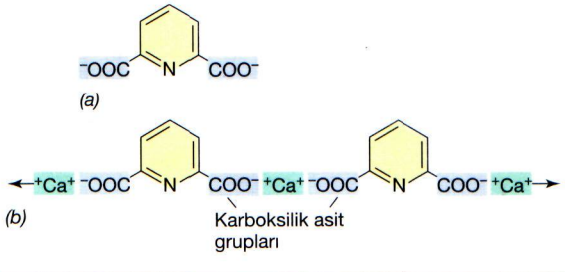
proteinden oluşan **ekzosporium**'dur. Bu yapının iç tarafında spora-özgü protein tabakalarından oluşan **spor kılıfları** yer alır (Şekil 4.48b). Spor kılıfının altında **korteks** bulunur. Korteks gevşek çapraz-bağlar içeren peptidoglikandan oluşur. Korteksin iç tarafında ise **öz** ya da **spor protoplastı** bulunur. Protoplast içinde öz duvarı, sitoplazmik zar, sitoplazma, nükleoid, ribozomlar ve diğer hücre materyalleri vardır (Kısım 2.1 ve Şekil 2.1a). Dolayısıyla endospor, öz duvarının *dışında* bulunan yapıların türü açısından vejetatif hücreden yapısal olarak farklıdır.

Dipikolinik asit (Şekil 4.49•) endospora özgü olan ve vejetatif hücrede bulunmayan bir kimyasal bileşiktir. Üzerinde araştırma yapılmış endospor-oluşturan bütün bakterilerde bulunan bu bileşik endosporun öz kısmında yer alır. Endosporlar kalsiyum iyonu açısından zengin olup, kalsiyumun büyük kısmı dipikolinik asit ile bir arada bulunur. Özteki kalsiyum-dipikolinik asit kompleksi endospor kuru ağırlığının yaklaşık % 10'unu kapsar. Bu kompleks endospor içindeki su miktarının azaltılması ve böylece endosporun dehidrate edilmesi işini görür. Buna ek olarak, bu kompleks DNA bazları arasına girer (interkalasyon yapar) ve böylece onu ısı denatürasyonuna karşı kararlı hale getirir.

Endospor Göbeğinin Özellikleri

Olgun endosporun öz kısmı, kendini oluşturan vejetatif hücreden oldukça farklıdır. Göbeğin su içeriğini azaltan yüksek miktardaki kalsiyum-dipikolinatın yanı sıra, sporulasyon sırasında öz daha da susuz hale gelir. Olgun endosporun göbeği vejetatif hücrenin su içeriğinin sadece % 10-25'i kadar su içerir. Bundan ötürü özteki sitoplazma jel kıvamındadır. Göbeğin su kaybetmesi, endosporun ısıya karşı direncini büyük ölçüde artırır. Su kaybının, endosporu hidrojen peroksit (H_2O_2) gibi kimyasallara karşı dirençli hale getirdiği ve öz içinde kalan enzimlerin inaktif hale gelmesine neden olduğu da gösterilmiştir.

Endosporun düşük su içeriğine ek olarak, öz içindeki pH, vejetatif hücre sitolazmasının pH'sından bir birim daha düşüktür. Öz içinde yüksek oranda protein bulunur. Bu proteinler *asitte-çözünen-küçük proteinler* (small acid-soluble proteins=SASPs) olarak adlandırılır. Bunlar sporulasyon süreci sırasında oluşturulur ve en az iki işleve sahiptir. SASP'lar özteki DNA'ya sıkıca bağlanır ve onu ultraviyole radyasyonu, kuruma ve kuru sıcak gibi potansiyel zararlara karşı korur. SASP'lar, DNA'nın moleküller yapısını değiştirerek, onun normal haldeki "B" formundan, daha sıkı yapılı "A" formuna geçmesine neden olurlar. A-formundaki DNA UV-radyasyonunun neden olduğu pirimidin-dimeri oluşumuna ve kuru sıcağın denatürasyon etkilerine karşı daha dayanıklıdır (pirimidin dimerleri mutasyon ortaya çıkarır Kısım 10.4). Bunlara ek olarak SASP'lar, *germinasyon* adı verilen ve endosporun vejetatif hücre oluşturma aşaması olan süreçte enerji ve karbon kaynağı olarak işlev görür.

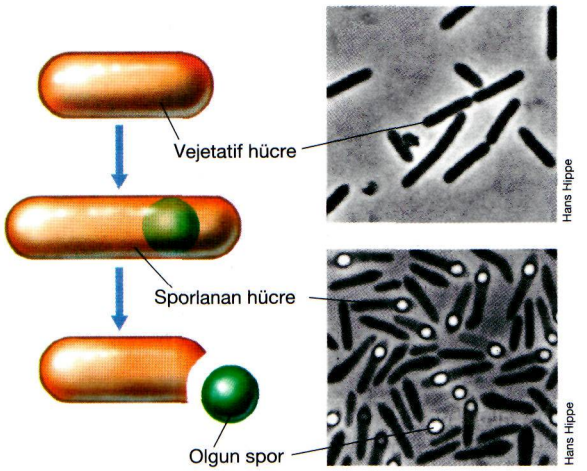


• **Şekil 4.49 Dipikolinik asit (DPA).** (a) DPA'nın yapısı. (b) Ca^{+2} iyonlarının DPA molekülleri ile çapraz-bağlar kurarak kompleks oluşturması.

Endospor Oluşumu

Endospor oluşumu sırasında vejetatif hücre ısıya-dirençli ve çoğalmayan bir yapıya dönüşür (Şekil 4.50•). Daha önce açıklandığı ve Tablo 4.3'de özetlendiği gibi, endospor ile vejetatif hücre arasında önemli farklar vardır. Sporulasyon, *hücre farklılaşması*ndaki karmaşık olayları içerir. Bakteriyal sporulasyon hücrelerin logaritmik olarak ürediği sırada değil, sadece zorunlu bir besinin tükenmesi sonucunda üremenin durduğu aşamada gerçekleşir. Dolayısıyla, endospor-oluşturan tipik bir bakteri olan *Bacillus* hücreleri karbon ya da azot kaynağı kısıtlı hale geldiğinde, üremeyi durdurur ve sporulasyona başlar.

Vejetatif üremeden sporulasyona geçiş, genetik olarak yönlendirilen değişiklikler aracılığı ile gerçekleşir. Sporlanan *Bacillus* hücrelerinde gerçekleşen yapısal değişiklikler Şekli 4.51•'de görülmektedir. Sporulasyon süreci çeşitli aşamalara ayrılabilir. Ayrıntılı araştırmaların yapıldığı *Bacillus subtilis*'de tüm sporulasyon süreci yaklaşık 8 saat sürer. Şekil 4.51'de gösterilen ve her biri sporulasyonun belirli



• **Şekil 4.50 Sporulasyon.** *Clostridium pascui* hücrelerinin faz kontrast fotomikrografları.

Tablo 4.3 Endosporlarla vejetatif hücreler arasındaki farklar

Özellik	Vejetatif hücre	Endospor
Yapı	Tipik gram-pozitif hücre; az sayıda gram-negatif hücre	Kalın spor korteksi Spor kılıfı Ekzosporium
Mikroskobik görünüş	Yansıtıcı değil	Yansıtıcı
Kalsiyum içeriği	Düşük	Yüksek
Dipikolinik asit	Yok	Var
Enzimatik aktivite	Yüksek	Düşük
Metabolizma (O_2 alımı)	Yüksek	Düşük ya da yok
Makromoleküler sentez	Var	Yok
mRNA	Var	Düşük ya da yok
Sıcaklığa direnç	Düşük	Yüksek
Radyasyon direnci	Düşük	Yüksek
Kimyasallara (örn. H_2O_2) ve asitlere karşı direnç	Düşük	Yüksek
Boyanma özellikleri	Boyanır	Sadece özel yöntemlerle boyanır
Lizozim etkisi	Duyarlı	Dirençli
Su içeriği	Yüksek, %80–90	Düşük, öz, %10–25
Asitte-çözünen küçük proteinler (*ssp* genlerinin ürünü)	Yok	Var
Sitoplazmik pH	Yaklaşık pH 7	Yaklaşık pH 5.5–6.0 (özde)

bir basamağında bloke edilmiş olan *Bacillus* mutantları ile yapılan genetik çalışmalar, sporulasyon sürecinde görev alan 200'den fazla gen olduğunu göstermiştir. Sporulasyon sırasında, vejetatif hücre işlevlerinde görevli proteinlerin sentezinin durması ve özgül endospor proteinlerinin yapılması gerekir (Şekli 4.48b). Bu durum, aralarında *spo* ve *ssp* (SASP'ları kodlayan) genleri de bulunan endospora-özgü birçok genin, sporulasyonu tetikleyen çevre koşullarına cevap olarak aktive edilmesiyle başarılır. Bu genler tarafından kodlanan proteinler, metabolizması işlevsel, su içeriği fazla olan vejetatif bir hücreyi, nispeten kuru ve metabolik olarak işlevsiz fakat aşırı ölçüde dirençli bir endospora dönüştüren olaylar serisini katalizler (Tablo 4.3 ve Şekil 4.51).

Germinasyon

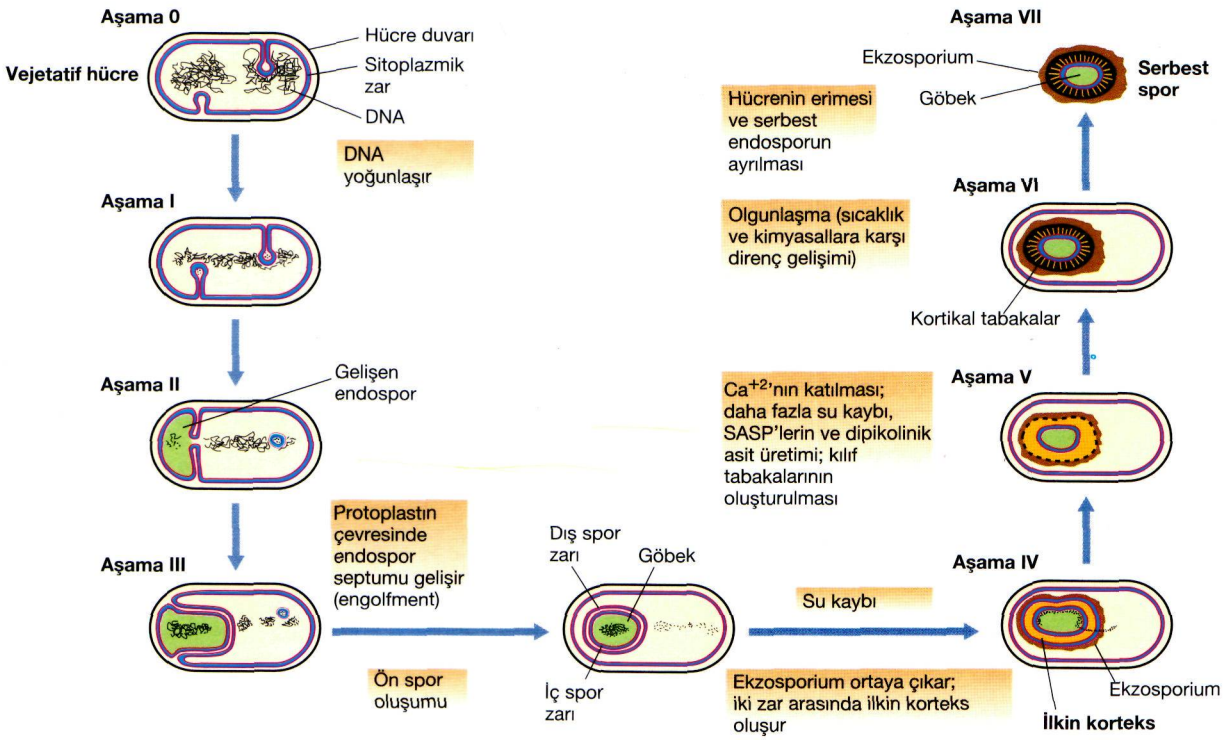
Bir endspor uzun yıllar boyunca dormant halde kalabildiği halde, (Bkz. Mikrobiyal Ek Bilgi) oldukça hızlı bir biçimde vejetatif hücreye dönüşebilir. Bu süreç üç basamak içerir: *aktivasyon*, *germinasyon* ve *gelişme* (Şekil 4.52●).

Aktivasyon yeni oluşturulmuş endosporların, öldürücü olmayan sıcaklıkta birkaç dakika ısıtılmasıyla başarılır. Aktive edilen endosporlar daha sonra, belirli amino asitleri (örneğin alanin endospor germinasyonu için iyi bir tetikleyicidir) ve diğer özgül besinleri içeren bir ortama koyulduğunda, germinasyona hazırlanırlar. Genellikle hızlı bir süreç olan *germinasyon*, endosporun mikroskobik yansıtıcılığının kaybına, boyalarla boyanma yeteneğinin artmasına ve kimyasallara ve ısıya karşı dirençliliğin kaybına neden olur. Kalsiyum dipikolinat ve korteks bileşenlerinin kaybolması ve SASP'ların yıkımı bu aşamada gerçekleşir. Son aşama olan *gelişme*, su girişi ve yeni DNA, RNA ve proteinlerin sentezi sonucunda gözle görülebilen bir şişme ile kendini gösterir. Hücre, parçalanan spor kılıfından dışarı taşar ve bölünmeye başlar (Şekil 4.52). Çevresel sinyaller tekrar sporulasyonu tetikleyene kadar, hücre vejetatif olarak üremeye devam eder.

Endospor Oluşumundaki Çeşitlilik ve Endospor Filogenisi

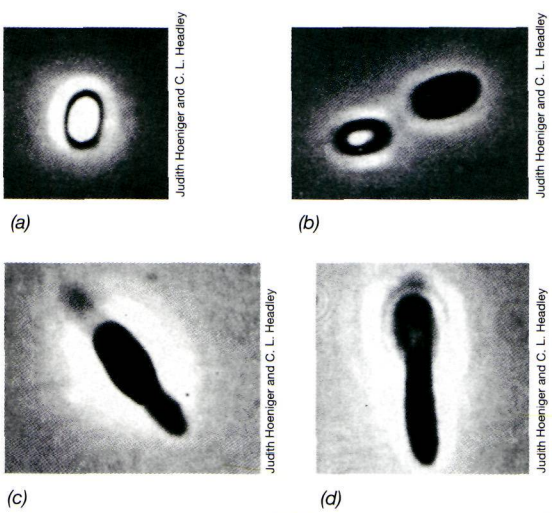
Endospor oluşumu ne kadar yaygın bir süreçtir? Bu süreç *Bacillus* ve *Clostridium* gibi az sayıdaki türde ayrıntılı olarak incelenmiş olmasına rağmen, yaklaşık 20 *Bacteria* cinsinin endospor oluşturduğu gösterilmiştir (Tablo 12.25). Bununla birlikte, endosporun canlılığını korumasına ait söz gelişi kalsiyum dipikolinat komplekslerinin (Şekil 4.49) ve endospora özgü genlerin nasıl kazanıldığı gibi birçok bilinmezin evrensel olduğu görülmektedir. Dolayısıyla, bazı ayrıntılarda değişiklik olmasına rağmen, endospor oluşumunun genel prensipleri endospor-oluşturan bütün bakterilerde aynıdır.

Filogenetik açıdan endospor oluşturma yeteneği, gram-negatif bakterilerin belirli bir alt-hattına özgüdür (Kısım 2.5 ve 12.20). Buna karşılık, endospor-oluşturan bakterilerin fizyolojisi büyük



● **Şekil 4.51 Endospor oluşum aşamaları.** Listelenen aşamalar (0-VII) hem genetik çalışmalar, hem de mikroskobik analizlerle ortaya çıkarılmıştır.

bir çeşitlilik göstermekte ve anaerobları, aerobları, fototrofları ve kemolitotrofları içermektedir. Fizyolojik çeşitlilik dikkate alındığında, farklı türlerdeki endospor oluşumunu tetikleyen gerçek sinyallerin, *Bacillus ve Clostridium* türlerindeki endospor oluşumunun temel tetikleyicisi olan basit bir besin eksikliliğinden farklı olabileceği görülür. Hiçbir *Archaea* türünün sporlanmadığının gösterilmiş olması ilginçtir. Bu durum endospor oluşturma yeteneğinin, temel prokaryotik hatların milyarlarca yıl önce ayrılmasından sonra evrimleştiği fikrini vermektedir. (Kısım 2.3 ve Şekli 2.7).



● **Şekil 4.52 *Bacillus*'da endospor germinasyonu.** Olgun endosporun (a) vejetatif hücreye (d) dönüşümü; fotomikrograflar ışığı çok yansıtan olgun endospor ile başlayan olaylar dizisini göstermektedir. (b)'de ışığı yansıtma özelliği kaybolmaktadır (aktivasyon. (c) ve (d)'de yeni bir vejetatif hücre ortaya çıkmaktadır.

4.13 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Endospor belirli gram-negatif *Bacteria* tarafından oluşturulan, çok dayanıklı, farklılaşmış bakteri hücresidir. Endospor oluşumu, zorunlu makromolekülleri ve kalsiyum dipikolinat ve çözünen küçük proteinler gibi vejetatif hücrelerde bulunmayan çeşitli bileşikleri içeren, aşırı ölçüde su kaybetmiş bir yapı ortaya çıkarır. Endosporlar uzun süreler dormant olarak kalabilir, ama uygun bir tetikleyici uygulandığında hızla germinasyona başlarlar.

- *Dipikolinik asit* nedir ve nerede bulunur?
- *SASP*'lar nedir ve ne işlev görürler?
- Endospor germinasyona başladığında ne olur?

IV MİKROBİYAL HAREKET

Mikrobiyal yapı ve işlev üzerindeki incelememizi hücre hareketini gözden geçirerek tamamlayacağız. Hücrelerin çoğu kendi güçleri ile hareket edebilir. Hücrelerin yaşadıkları çevrenin farklı bölgelerine ulaşabilmesi, hareket ile mümkün olur. Yeni bir yere taşınması, hayatta kalış mücadelesinde

hücreye yeni kaynaklar ve üreme fırsatları sağlar. Bu olay, yaşam ile ölüm arasındaki farkı ifade eder.

Bu bölümün son birkaç kısmında, yüzme ve kayma gibi farklı hücre hareketlerini göden geçirecek, daha sonra da hareketli hücrelerin belirli bir uyarana doğru ya da ondan uzaklaşacak şekilde nasıl hareket edebildikleri (*taksis* olarak adlandırılan olay) ve basit davranışsal cevap örnekleri üzerinde duracağız.

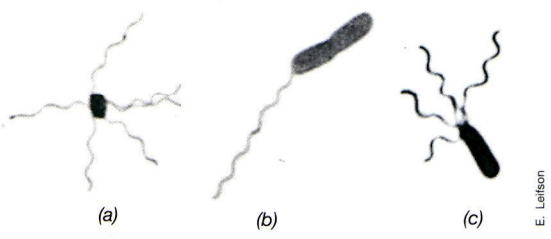
4.14 Kamçı ve Hareket

Prokaryotların çoğu hareketli olup, bu işlev **kamçı** (**flagellum**, çoğulu **flagella**) adı verilen özel bir yapı sayesinde başarılır (Şekil 4.53●). Bazı bakteriler katı yüzeylerde *kayarak* hareket edebilir (Bkz. Kısım 4.14). Planktonik mikroorganizmalar, gaz vezikülleri adı verilen gazla dolu yapılar aracılığı ile su kolonu içindeki poziyonlarını düzenleyebilir (Bkz. Kısım 4.12 ve 12.25). Bununla birlikte, hareketli prokaryotların büyük kısmı rotasyon yapan bir kamçı aracılığı ile hareket eder. Şimdi bu olayın ayrıntılarını gözden geçirmeye başlıyoruz.

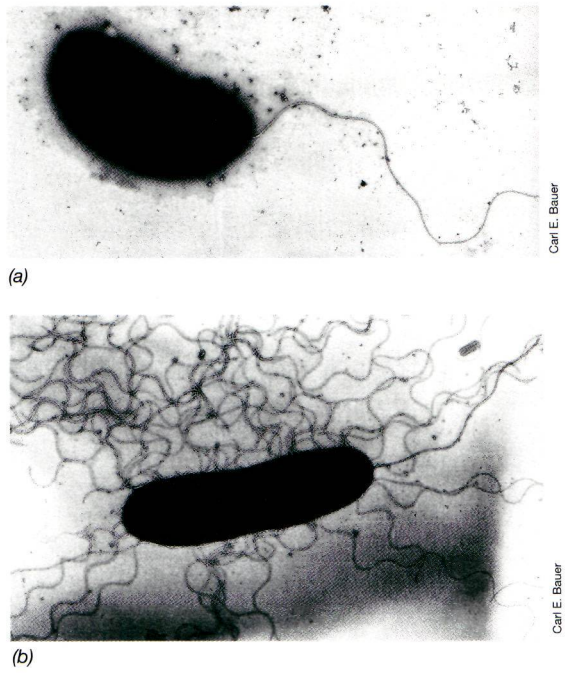
Bakteriyal Kamçı

Bakteriyal kamçılar bir ucu serbest, diğer ucu bakteriye tutunmuş olan, ince, uzun uzantılardır. Kamçılar çok ince (yaklaşık 20nm) yapılı olduğu için, tek bir kamçının ışık mikroskobunda gözlenebilmesi ancak kamçının çapını artıran özel boyalarla boyanması ile mümkün olur (Şekil 4.53). Kamçılar elektron mikroskop ile kolayca görülebilir (Şekil 4.54●).

Farklı bakterilerdeki kamçılar farklı düzenleniş içindedir. **Polar** kamçılar hücrenin ya bir ya da her iki ucuna tutunmuş haldedir (Şekli 4.53*b* ve 4.54*a*). Sıklıkla rastlanan durum bir grup kamçının hücrenin bir ucundan uzanması şeklindedir. Bu şekildeki düzenleniş **lofotriş** (*lopho*="demet"; *trichous*="saç") olarak adlandırılır (Şekli 4.53c). Bu tip kamçı demetleri, canlı hürcelerde karanlık-alan mikroskobu ile gözlemlendiğinde, koyu renk zemin üzerindeki açık renk hücrelere tutunmuş, açık renkli yapılar olarak görülür. Aşırı büyüklükteki prokaryotlarda kamçı demetleri faz kontrast mikroskop ile de gözlemlenebilir (Şekli 4.55*b*) **Peritriş** kamçılar (Şekil 4.53*a* ve 4.54*b*) hücre yüzeyine birçok noktadan tutunmuş haldedir (*peri*="etrafında"). Polar ya da peritriş kamçı tipleri, bakterileri sınıflandırmada kullanılan özelliklerden biridir.



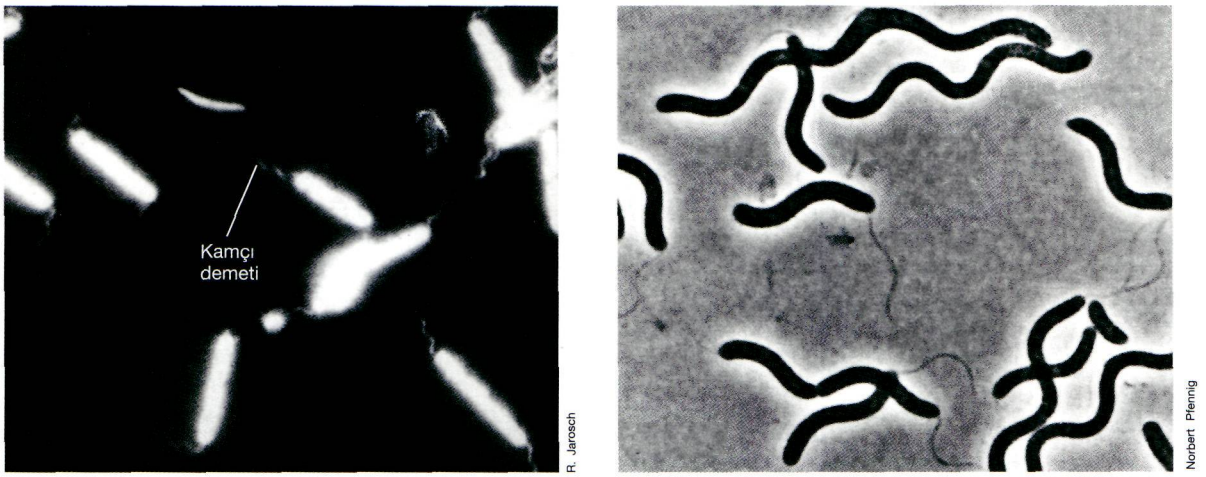
● **Şekil 4.53 Bakteriyal kamçı.** Değişik kamçı düzenlerine sahip prokaryotların ışık fotomikrografları. Hücreler Leifson kamçı boyası ile boyanmıştır. (a) Peritriş. (b) Polar. (c) Lofotriş.



● **Şekil 4.54 Bakteriyal kamçının ince yapısı.** Negatif boyanmış bakteri kamçısının transmisyon elektron mikroskobundaki görüntüsü. (a) Tek bir polar kamçı. (b) Peritriş kamçılar. Her iki mikrograftaki hücreler fototrofik *Rhodospirillum centenum* bakterisine aittir. *R. centenum* hücreleri normal koşullarda polar kamçıya sahip olmakla birlikte, bazı üreme koşullarında peritriş kamçılı hücreler oluştururlar. Şekil 4.63b'ye bakınız.

Kamçı Yapısı

Kamçılar düz değil, helikal biçimlidir. Heliksin ardışık kıvrımları birbirinden sabit uzaklıkta olup, bu mesafe *dalgaboyu* olarak adlandırılır. Bu dalgaboyu her tür için karakteristiktir (Şekil 4.53–4.55). Bakteriyal kamçının filamentleri **flagellin** adı verilen protein alt birimlerinden oluşur. Kamçının biçimi ve dalgaboyu kısmen flagellin proteininin yapısı, kısmen de filamentin rotasyon yönü tarafından belirlenir. Burada anlatılan temel kamçı yapısı *Bacteria* türleri arasında çok az değişiklilik gösterir. Buna karşılık, *Archaea*'da çok sayıda farklı flagellin bulunmakta ve kamçı yapısı *Bacteria* kamçısından oldukça farklı görünmektedir. Ancak bu iki grubun kamçıları oldukça benzer işlevlere sahiptir. *Bacteria* türlerindeki flagellin oldukça korunmuş olduğundan, bu domain içindeki canlılarda kamçı hareketinin çok eskiye dayanan evrimsel kökleri olduğu düşünülmektedir.



(a) (b)

● **Şekil 4.55** **Canlı hücrelerde gözlemlenen bakteriyal kamçılar.** (a) Her iki kutbunda kamçı demetleri içeren, çubuk-şekilli bir bakteri grubunun karanlık-alan fotomikrografı. Her hücre yaklaşık 2μm genişliğindedir. Karanlık-alan mikroskobisi, ışığın yansıyabilmesi için yatay aydınlatma kullanır (Bkz. Kısım 4.1 ve Şekil 4.5c). (b) Fototrofik mor bir bakteri olan *Rhodospirillum photometricum*'un faz-kontrast fotomikrografı. Tek bir hücrenin boyutları yaklaşık 3 × 30μm'dir. Tek kutuptan çıkan lofotriş kamçılara dikkat ediniz.

Kamçı, çeşitli bileşenlerden oluşur ve motorlu bir teknenin pervanesine benzer bir *rotasyon* hareketi ile iş görür. Kamçının taban kısmı yapısal olarak filamentten farklıdır (Şekil 4.56a●) Kamçı tabanının daha geniş olan kısmı *kanca* olarak adlandırılır. Kanca tek tip proteinden oluşur ve filament ile kamçı motorunu birbirine bağlar.

Motor, sitoplazmik zara ve hücre duvarına tutunmuş haldedir. Motor, merkezdeki küçük bir çubuk ve bunun içinden geçtiği halkalardan oluşur. Gram-negatif *Bacteria*'da *L halkası* adı verilen dış halka, lipopolisakkarit tabakaya tutunur. *P halkası* denilen ikinci halka, hücre duvarının peptidoglikan tabakasına bağlıdır. *MS ve C halkaları* adı verilen üçüncü halka seti ise sırasıyla sitoplazmik zarda ve sitoplazmada yer alır (Şekil 4.56a). Dış zardan yoksun olan gram-pozitif *Bacteria*'da sadece içteki halka çifti bulunur. İç halkayı çevreleyen ve sitoplazmik zara tutunmuş olan bir seri protein vardır. Bunlar *Mot proteinleri* olarak adlandırılır (Şekil 4.56a). Son olarak *Fli proteinleri* adı verilen protein seti (Şekil 4.56a), hücre-içi sinyallere cevap olarak kamçı rotasyonunun yönünü değiştiren bir motor anahtarı olarak iş görür.

Kamçı Hareketi

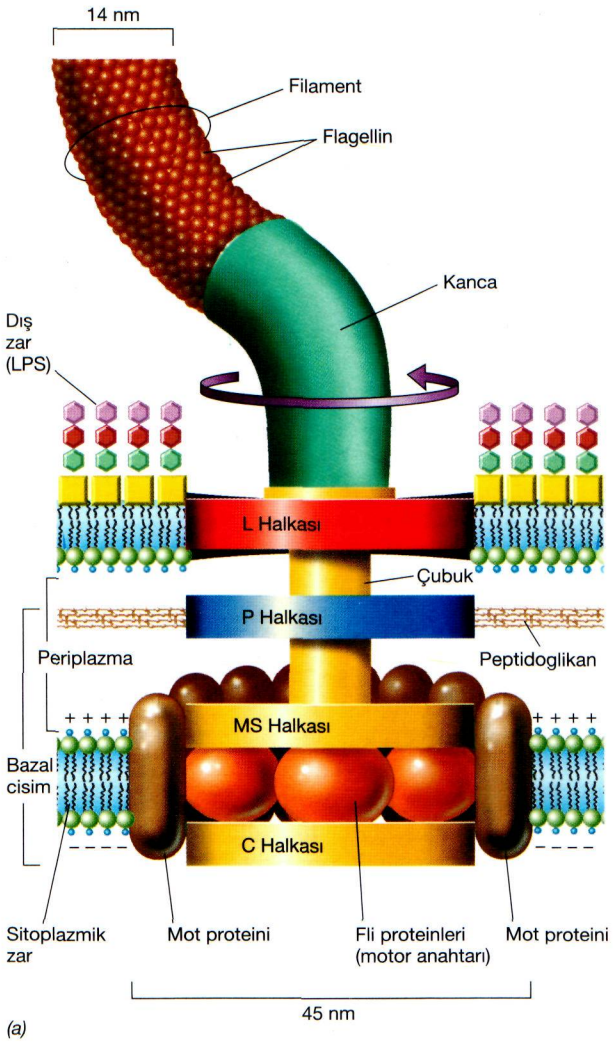
Kamçı küçük bir devir motorudur. Bu motor nasıl çalışır? Devir motorları iki bileşen içerir: rotor (hareketli kısım) ve stator (hareketsiz kısım). Kamçı motorundaki *rotor* C, MS ve P halkalarından oluşur. Bu yapıların hepsi birlikte **bazal cismi** oluşturur. Mot proteinlerinden oluşan *stator* MS ve C halkaları ile çevrili olup, dönme hareketi üretecek şekilde işlev görür.

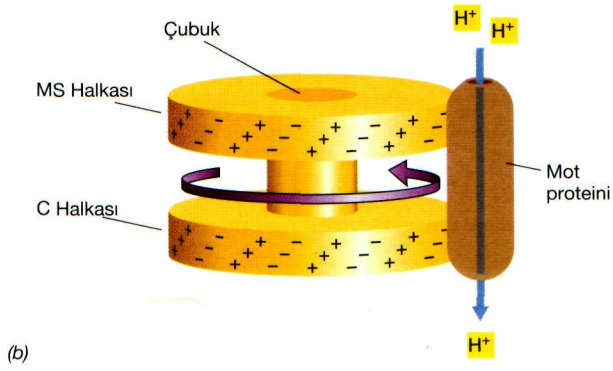
Kamçının dönme hareketini bazal cisim sağlar. Kamçının dönmesi için gereken enerji proton hareket ettirici güçten (proton motiv güç) sağlanır (Bkz. Kısım 4.6 ve 5.12). Mot kompleksinin içinden geçerek, sitoplazmik zarın iki yüzeyi arasında hareket eden protonlar (Şekil 4.56a) kamçının dönmesini sağlar ve yapılan hesaplamalar kamçının her dönüşü için yaklaşık 1000 protonun aktarılması gerektiğini gösterir. Bunun nasıl gerçekleştiği henüz bilinmemektedir. Bununla birlikte, mevcut deneysel verileri açıklamak üzere "proton türbini" modeli önerilmiştir (Şekil 4.56b). Bu modele göre, stator içindeki kanallardan akan protonlar, rotor proteinleri üzerinde sarmal biçimde düzenlenmiş elektrik yükleri üzerine elektrostatik güç uygular. Pozitif ve negatif yükler arasındaki çekim, protonlar stator içinden aktıkça bazal cismin dönmesine neden olur (Şekil 4.56b).

Kamçı Sentezi

Kamçı sentezi ve hareketi için çeşitli genlere gereksinim vardır. Üzerinde en çok araştırma yapılmış olan *Escherichia coli* ve *Salmonella typhimurium*'da hareket için 10'dan fazla gen gerekir. Bu genler çeşitli işlevlere sahiptir. Bu işlevler arasında kamçı aygıtının yapısal proteinlerini kodlamak, kamçı bileşenlerini sitoplazmik zar dışına göndermek ve yeni kamçının sentezi sırasında gerçekleşen birçok biyokimyasal olayı düzenlemek vardır.

Her bir kamçı hayvanlardaki kılların tersine, dip kısmından değil, uç kısmından uzar. İlk önce MS halkası sentezlenir ve sitoplazmik zara katılır. Daha sonra, filament oluşumu gerçekleşmeden önce, kanca ile birlikte tutunmayı sağlayan diğer proteinler sentezlenir (Şekil 4.57●). Sitoplazmada sentezlenen flagellin molekülleri filament içindeki 3nm'lik kanaldan geçerek, olgun kamçıyı oluşturmak üzere uç kısma eklenirler. Uzayan kamçının uç kısmında protein yapısında bir "şapka" bulunur.





Şapka proteinleri, kanal içinde difüze olan flagellin moleküllerinin, yeni filamenti oluşturacak şekilde kamçı ucunda organize olmalarına yardım eder (Şekil 4.57). Kamçı uzaması, bu yapı nihai uzunluğa ulaşana kadar, oldukça kesintisiz bir biçimde sürer. Kırılan kamçı dönmesini sürdürür ve kaybedilen flagellin birimlerinin yerine filament kanalından gelen yeni birimler eklenerek, tamir edilebilir.

Hücre Hızı

Kamçı sabit bir hızla dönmez; bunun yerine proton hareket ettirici gücün kuvvetine bağlı olarak, hızını artırabilir ya da azaltabilir. Kamçının dönüşü bakterilerin sıvı ortamda 60 bakteri boyu/saniye hızla hareket etmesini mümkün kılar. Bu hız sadece 0,00017 kilometre/saat (km/sa) olmasına karşılık, yüksek organizmaların bir saniyede kendi *boylarının kaç misli yol aldıkları* düşünüldüğünde, bunun olağanüstü bir hız olduğu görülür. En hızlı hayvan olan çitanın maksimum hızı yaklaşık 110 km/saattir. Bu hız yaklaşık 25 vücut uzunluğu/saniye kadardır. Dolayısıyla, boyutlar göz önüne alındığında, 50-60 vücut uzunluğu/saniye hızla yüzen prokaryotik hücreler aslında büyük organizmalardan daha hızlı hareket etmektedir.

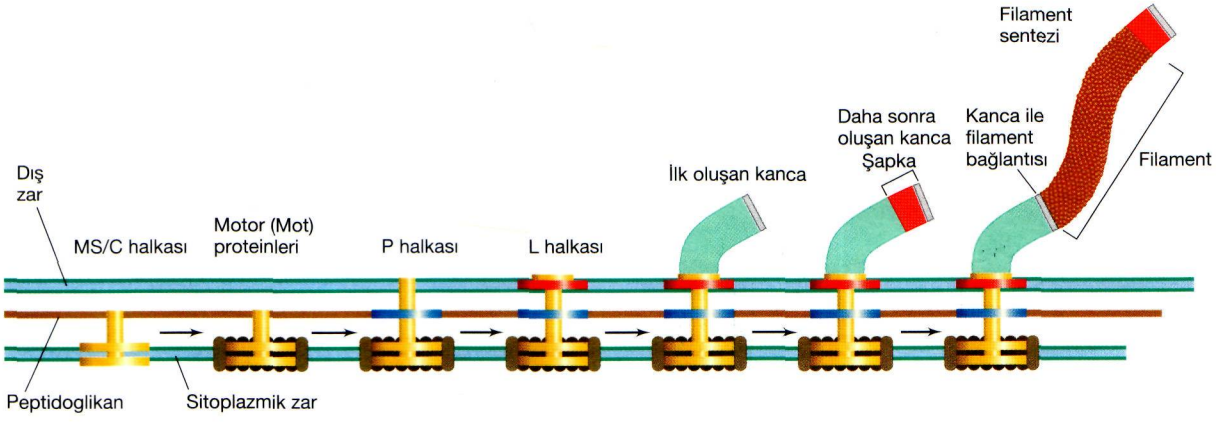
Polar ya da lofotriş kamçılara sahip organizmaların hareketi,peritriş kamçılı olanların hareketinden farklıdır. Bu durum mikroskop altında ayırt edilebilir. Peritriş kamçılı organizmalar tipik olarak düz bir hat üzerinde yavaş ve kararlı bir hareket tarzına sahiptir. Polar kamçıya sahip organizmalar ise, kendi etrafında dönerek ileriye doğru hızla hareket ederler. Polar ve peritriş organizmalardaki kamçıların farklı karakterleri ve kamçının geri-dönüşümlü özelliğindeki farklılıklar Şekil 4.58 ●'de gösterilmiştir.

4.14 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Birçok mikroorganizma kamçı aracılığı ile hareket eder. Prokaryotlardaki kamçı, karmaşık yapılı olup, çeşitli proteinlerden yapılmıştır. Bu proteinlerin çoğu hücre davarı ve sitoplazmik zara tutunmuş haldedir. Tek tip proteinden yapılmış olan kamçı filamenti, proton hareket ettirici güç tarafından döndürülür. Bu güç kamçı motorunu çalıştırır.

- *Flagellin* nedir, nerede bulunur?
- Bakteriyal kamçı, hücreyi nasıl ileriye doğru hareket ettirir?
- Polar kamçılılık ile peritriş kamçılılık arasındaki fark nedir?

● **Şekil 4.56 Gram-negatif *Bacteria*'daki prokaryotik kamçı yapısı ve işlevi.** (a) Yapı. L halkası LPS, P halkası peptidoglikan, MS halkası sitoplazmik zar, C halkası ise sitoplazma içine gömülüdür. Çubuk ve filament içinde yer alan dar kanal, flagellin moleküllerinin kamçı sentezi bölgesine difüze olmasına izin verir. Mot proteinleri kamçı motorunun hareketinde görev alırken, Fli proteinleri motor anahtarı olarak işlev görürler. Kamçı motoru filamenti döndürerek, hücrenin ortamda hareket etmesini sağlar. (b) İşlev. Kamçının nasıl döndüğünü açıklamak üzere "proton türbini" modeli önerilmiştir. Mot proteinleri içinden akan protonların, C ve MS halkalarında bulunan yükler üzerine uyguladığı güç, rotoru döndürür.



● **Şekil 4.57 Flagella biyosentezindeki basamakların özeti.** Sentez sitoplazmik zarda MS/C halka birlikteliğinin kurulmasıyla başlar. Bu olayı, diğer halkaların, kancanın ve şapkanın oluşumu izler. Bu noktada filamenti oluşturacak olan flagellin proteini (bir filamenti oluşturmak için yaklaşık 20.000 kopya gerekir) kanca içinde akar. Filamentin doğru biçimde uzamasını sağlamak için, şapka proteinleri flagellin moleküllerine önderlik eder.

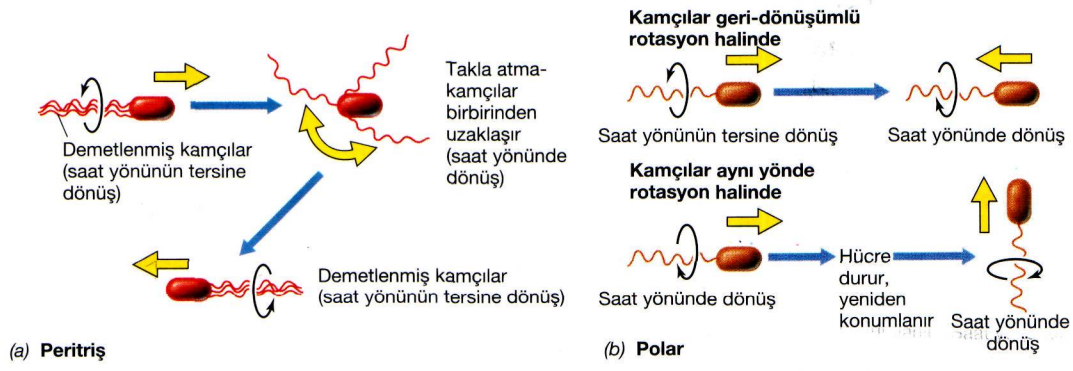
4.15 Kayma Hareketi

Bazı prokaryotlar hareketli olmakla birlikte, kamçıları yoktur. Yüzmeyen ama hareketli olan bu bakteriler katı yüzeyler üzerinde **kayma** adı verilen bir süreç ile hareket ederler. Hücrelerin genel olarak durup sonra farklı bir yönde harekete başladığı kamçı hareketinin aksine kayma hareketi daha yumuşak bir hareket tarzı olup, tipik olarak hücrenin uzun ekseni boyunca gerçekleşir. Kayma hareketi *Bacteria* gurubunda oldukça yaygın olarak bulunmakla birlikte, sadece az sayıda bakteride iyi çalışılmıştır. Kayma hareketi kamçı hareketinden oldukça yavaş olmakla birlikte, -bazı bakterilerde 10μm/san- hücrenin kendi habitatı içinde hareket etmesine olanak verir.

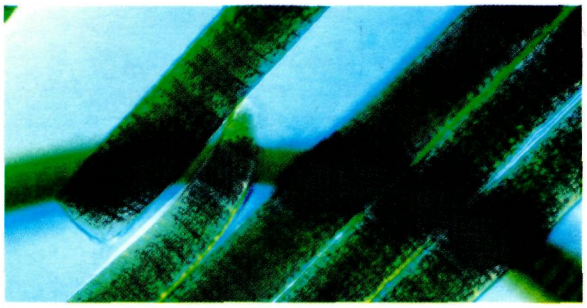
Kayma hareketi yapan prokaryotlar filamentöz ya da çubuk şeklindedir (Şekil 4.59●) ve bu süreç hücrelerin katı yüzey ile temas halinde olmasını gerektirir. Kayma hareketi yapan tipik bir bakterinin koloni morfolojisi (koloniler tek bir hücrenin tekrar tekrar bölünmesi ile oluşan bakteri kütlesidir, Kısım 5.3) farklı görünümdedir; çünkü hücreler kayarak koloni merkezinden uzaklaşırlar (Şekil 4.59c). Kayma hareketi yaptığı bilinen bakteriler filamentöz siyanobakteriler (Şekil 4.59à, b ve Kısım 12.25), *Myxococcus* ve diğer miksobakteriler gibi bazı gram-negatif *Bacteria* (Kısım 12.17) ve *Cytophaga* ve *Flavobacterium* türleridir (Şekil 4.59 c, d ve Kısım 12.31).

Kayma Hareketinin Mekanizması

Kayma mekanizması tam olarak açıklanamamış olmakla birlikte, birden fazla mekanizma olduğu tahmin edilmektedir. Siyanobakteriler kayma hareketi yaparken, hücrenin dış yüzeyine polisakkarit yapıda cıvık bir madde salgılar (Şekil 4.59*a, b*). Bu madde hücre ile katı yüzey arasındaki teması sağlar. Yüzeye tutunan bu madde aracılığı ile hüc-

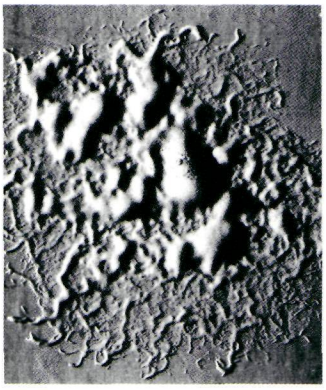


● **Şekil 4.58 Prokaryotlardaki polar ve peritriş kamçıların hareket etme tarzları.** (a) Peritiş: Demetteki tüm kamçıların saat yönünün tersine dönmesiyle ileri doğru hareket sağlanır. Saat yönündeki hareket, hücrenin takla atmasına neden olur. Daha sonra saat yönünün tersine dönüşe geri dönülmesi, hücrenin durmasına ve yeni bir yöne doğru yönelmesine yol açar. (b) Polar: Hücreler ya kamçının dönüş yönünü tersine çevirerek yön değiştirirler (dolayısıyla hücre itilmek yerine çekilir) ya da aynı yönde dönen kamçılar söz konusu olduğunda, hücreler yeniden konumlanmak üzere, periyodik olarak dururlar ve kamçının saat yönünde dönmesi ile ileriye doğru hareket ederler. Sarı oklar, hareket halindeki hücrenin yönünü göstermektedir.



(a)

(b)



(c)

(d)

● **Şekil 4.59 Kayan bakteriler.** (a, b) Büyük filamentöz bir siyanobakteri olan *Oscillatoria princeps*. (a) Fotomikrograf. Hücrenin genişliği yaklaşık 35μm'dir. (b) Agar yüzeyinde kayan filamentlerin fotoğrafı. Hücreler ya katı bir yüzey üzerinde ya da bir filamentin diğerini katı yüzey olarak kullanmasıyla kayarlar. (c, d) Kayarak hareket eden gram-negatif *Flavobacterium johnsoniae*. (c) Kayarak koloni merkezinden uzaklaşan hücre kütlesi (koloni genişliği yaklaşık 2.7mm'dir). (d) Tipik olarak kaymayan bakteri koloni morfolojisi gösteren mutant kayan bakteri suşu (kolonilerin çapı 0.7-1mm'dir). *F. johnsoniae* hücrelerinin kayma mekanizması için önerilen model Şekil 4.60'da görülmektedir.

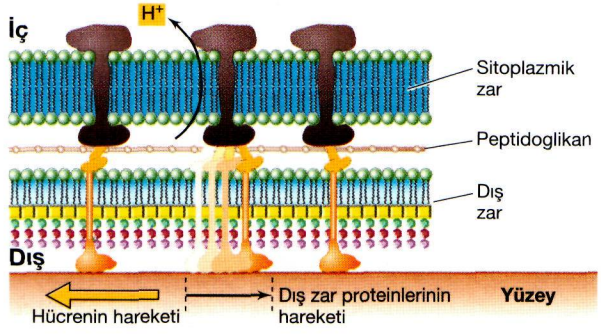
re ileriye doğru çekilir. Çeşitli filamentöz siyanobakterilerin hücre yüzeyinde yer alan porlardan cıvık madde salgılandığının gözlenmiş olması, bu hipotezi desteklemiştir.

Fotosentetik olmayan bakterilerdeki kayma hareketi, cıvık madde salgılama mekanizması ile gerçekleşmez. Örneğin *Flavobacterium johnsoniae* cıvık madde salgılamaz (Şekil 4.59c). Bu bakterinin yüzeyinde yer alan hareket proteinlerinin kayma mekanizmasından sorumlu olabileceği düşünülmektedir. *F. johnsoniae*'nin sitoplazmik ve dış zarları üzerinde yer alan özgül hareket proteinlerinin, çark hareketine benzer bir mekanizma ile sürekli olarak hücreyi ileriye doğru ittiği düşünülmektedir (Şekil 4.60●). Sitoplazmik zar proteinlerinin hareketi proton motiv güçten (Kısım 4.6 ve 5.12) sağlanan enerji ile sürdürülür. Bu proteinler bu enerjiyi bir şeklide dış zardaki proteinlere ulaştırırlar. Bu proteinlerin katı yüzey üzerinde hareket etmesiyle hücrenin ileriye doğru çekildiği tahmin edilmektedir (Şekil 4.60).

Diğer hareket tarzları gibi kayma hareketi de ekolojik açıdan önemli sonuçlar doğurur. Kayma hareketi hücrenin yeni besin kaynakları bulmasına ya da diğer hücreler ile yararlı ilişkiler kurmasına olanak verir. Kayma hareketi yapan bakterilerin en bilinen örnekleri olan miksobakteriler, çok sosyal ve işbirliğine dayanan bir hayat tarzına sahiptirler. Bu tip bir hayat tarzı için gerekli olan hücrelerarası etkileşimlerin kurulmasında, kayma hareketi önemli bir rol oynar (Kısım 12.17).

4.15 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Kayarak hareket eden prokaryotlar kamçının dönüş hareketini kullanmazlar. Bu organizmalar birkaç mekanizmadan biri aracılığı ile, katı yüzeyler üzerinde sürünerek hareket ederler.



● **Şekil 4.60 *Flavobacterium johnsoniae* ve diğer kayan bakterilerde görülen kayma hareketi için önerilen model.** Peptidoglikan içinde var olduğu düşünülen bazı hatların (sarı), sitoplazmik proteinleri (kahverengi), dış zar proteinlerine (turuncu) bağladığı ve onları katı yüzey üzerinde ileriye doğru sürüklediği varsayılmaktadır. Dış zar proteinlerinin hareket yönü ile, hücrenin hareket yönü arasındaki farka dikkat ediniz. Proteinlerin ileriye doğru hareketi ile proton motiv güç arasında bir şekilde ilişki olduğu düşünülmektedir.

- ◆ *Kayma* hareketi ile *yüzme* hareketi arasında hem mekanizma hem de gerekli olan koşullar açısından ne gibi farklılıklar vardır?
- ◆ Filamentöz bir siyanobakterinin kayma mekanizması ile *Flavobacterium*'un kayma mekanizmasını karşılaştırınız.

4.16 Davranışsal Cevap Olarak Hücre Hareketi: Kemotaksis ve Fototaksis

Prokaryotlar doğadaki çeşitli kimyasal ya da fiziksel ajanların *gradientlerine* sık sık yüz yüze gelirler. Hücreler bu sinyal molekülün yararlı ya da zararlı bir bileşik olmasına bağlı olarak, tepki vermek üzere ya ona doğru ya da ondan uzaklaşacak şekilde hareket edecek yollar evrimleştirmişlerdir. Bu tip yönlü hareketler *taksis* olarak adlandırılır En iyi bilinen iki taksis tipi kimyasallara karşı gösterilen **kemotaksis** ile ışığa karşı gösterilen **fototaksis**'dir. Burada genel olarak taksis kavramı üzerinde duracağız. Kısım 8.13'de, tüm prokaryotik taksisleri kemotaksisin ayrıntılarını incelerken, yeniden gözden geçireceğiz.

Kemotaksis yüzen bakterilerde ayrıntılı olarak çalışılmış bir olaydır. Çevrenin kimyasal durumu ile kamçı organizasyonu arasındaki ilişkinin genetik düzeyde nasıl başarıldığı konusunda çok şey bilinmektedir. Bu nedenle burada sadece yüzen bakteriler konu edilecektir. Ancak kayan bakterilerin bazılarının kemotaktik olduğu, filamentöz siyanobakterilerde de fototaktik hareketler gerçekleştiği gösterilmiştir. Dolayısıyla, mekanizmanın ne olduğu bilinmese de, yüzen bakteriler de kayan bakterilere benzer şekilde, hareket aygıtları aracılığı ile bir çeşit iletişim kurma yeteneğine sahip olmak zorundadırlar.

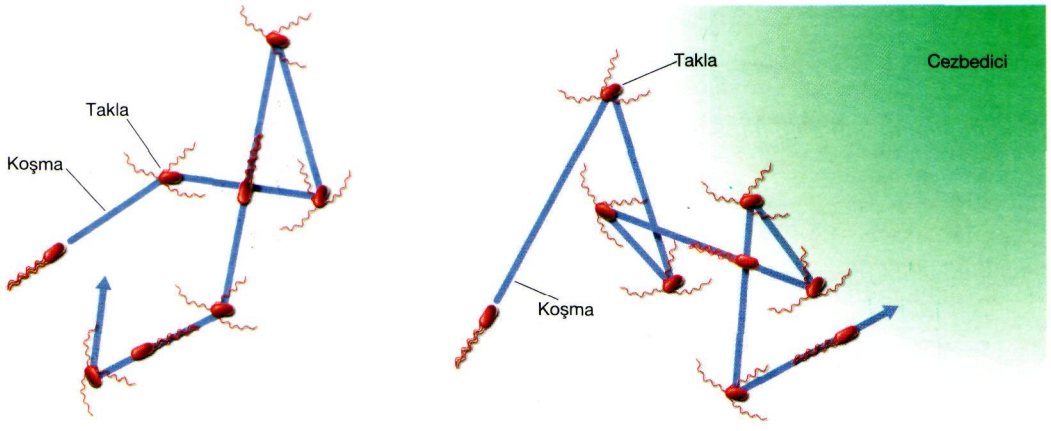
Kemotaksis

Kemotaksisin ne olduğunu anlamak için cezbedici bir kimyasal ile karşılaşan bir bakteri hücresinin davranışını inceleyelim (Şekil 4.61●). Büyük organizmaların aksine prokaryotlar çok küçük oldukları için, hücre uzunluğu boyunca varolan bir yoğunluk farkını algılayamazlar. Hareket halindeki prokaryotlar çevrelerinin fiziksel ya da kimyasal durumunu anlamak için birkaç saniye önceki algı ile birkaç saniye sonraki algıyı karşılaştırırlar. Diğer bir deyişle bakteriler yüzdükleri rotada bulunan sinyal molekülleri *gradiyentine* (konsantrasyon farkı) yol boyunca (spatial) değil, geçici olarak (temporal) cevap verirler.

Kemotaksis konusundaki en kapsamlı araştırmalar peritriş kamçılara sahip bir bakteri olan *Escherichia coli* üzerinde yapılmıştır. Gradiyent bulunmayan durumlarda *E. coli* hücreleri yavaş yavaş ileriye doğru yüzerken **koşma** hareketi içindedirler. Hücre durduğu zaman, dans eder gibi sıçrar ve **takla atar** (Şekil 4.61*a*). Takla hareketinden sonraki koşma yine gelişigüzel yöndedir (Şekil 4.61*a*). Dolayısıyla hücre koşarak ve taklalar atarak, içinde bulunduğu çevrede gelişigüzel hareket etmesine rağmen aslında hiçbir yere gitmemektedir.

Eğer ortamda kimyasal bir cezbedici gradiyenti varsa, bu rasgele hareketler düzene girer. Organizma bu cezbediciyi algıladığında, bu bileşiğin daha yoğun olduğu yöne doğru hareket eder (bu hareket sırasında hücre periyodik olarak çevresindeki kimyasal konsantrasyonunu kontrol etmektedir), koşma mesafesi uzar, taklalar seyrekleşir. Bu davranışsal cevabın net sonucu, organizmanın cezbedici konsantrasyonunun fazla olduğu yere doğru hareket etmesidir (Şekil 4.61*b*).

Eğer organizma kendisine itici gelen bir bileşiği algılarsa, aynı genel mekanizma devreye girer; ancak bu kez madde konsantrasyonun *az* olduğu kısma doğru hareket söz konusudur. Konsantrasyon *artışı* koşma hareketini hızlandırır. Koşu sırasında ileri yöndeki hareket, kamçı motorunun *saatin ters yönünde* dönmesiyle gerçekleşir. Kamçılar saat yönünde döndüğü zaman birbirlerinden uzaklaşır, ileri yöndeki hareket sona erer ve hücre takla atar (Şekil 4.58 ve 4.61).



● **Şekil 4.61 Peritriş kamçılara sahip *Escherichia coli* bakterisindeki kemotaksis.** (a) Kimyasal cezbedici yokluğunda hücre koşma hareketleri ile rasgele yüzer ve takla atma sırasında yön değiştirir. (b) Cezbedici varlığında koşma hareketi belirli bir yön kazanır ve hücre cezbedicinin yoğun olduğu yöne doğru hareket eder.

Polar kamçıya sahip olan hücrelerde durum biraz farklıdır. Polar kamçıya sahip bakterilerin birçoğu (örneğin *Pseudomonas* türleri) peritriş kamçılı bakteriler gibi, kamçılarının dönme yönünü değiştirebilir ve bu sayede zıt yöne doğru hareket edebilir (Şekil 4.58b). Ancak, fototrofik bir bakteri olan *Rhodobacter sphaeroides* gibi polar kamçıya sahip bazı bakterilerde kamçı sadece saat yönünde rotasyon yapar. Bu hücreler nasıl yön değiştirirler ve bunlar acaba kemotaktik midir?

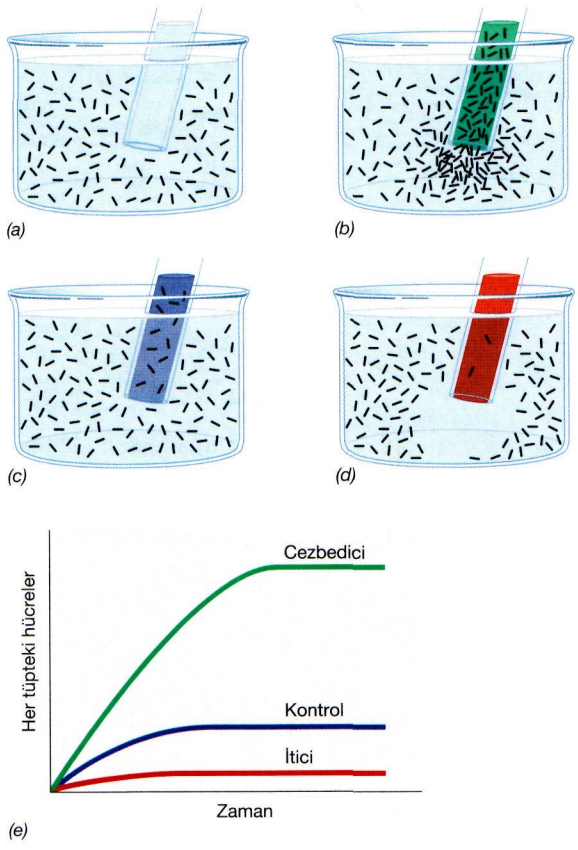
Tek bir kamçısı olan *R. sphaeroides*'de kamçının dönüşü periyodik olarak durur. Bu sırada hücre Brown hareketleri ile gelişigüzel hareket eder hale gelir. Kamçı yeniden dönmeye başladığında, hücre yeni bir yöne hareket etmeye başlar (Şekil 4.43b). *R. sphaeroides* çeşitli karbon bileşiklerine karşı kuvvetli bir kemotaksis göstermesine ek olarak, oksijene ve ışığa karşı da taktik cevaplar verir. *R. sphaeroides*'deki kamçı motoru hareket yönünü tersine çevirmese de, bu organizmadaki kemotaksis de *E. coli*'dekine benzer bir mekanizma ile gerçekleşir: Cezbedici maddenin artan miktarlarında *R. sphaeroides* kamçısı dönmeyi sürdürürken, cezbedicinin azalan miktarları ya da itici bir maddenin artan miktarları söz konusu olduğunda, hücreler durur ve yön değiştirirler.

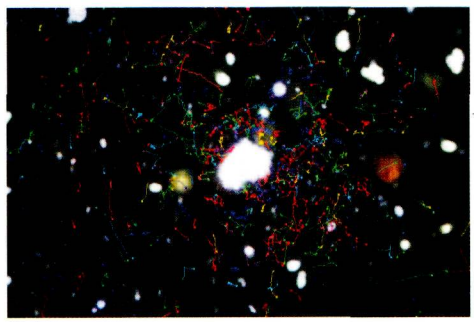
Kemotaksisin Ölçülmesi

Bakteriler kimyasal konsantrasyonundaki geçici değişiklikleri kullanarak, kamçının dönüşünü nasıl kontrol ederler? Bu karmaşık olay, genetik ve biyokimyasal düzeylerde çeşitli süreçler içerir (Kısım 8.13). Şimdilik, sitoplazmik zarda yer alan algı proteinlerinin kemotaksisin moleküler mekanizmasında iş gördüklerini söylemekle yetineceğiz. *Kemoreseptörler* olarak adlandırılan bu proteinler, kimyasalın gradiyentini algılar ve kamçı motorunun yönünü etkilemek için sitoplazmik proteinlerle etkileşir. Dolayısıyla, hücrenin koşacağı ya da takla hareketi yapacağı, kamçı dönüşü tarafından yönetildiği için, kamçı işlevini etkileyen *algılayıcı cevap sistemi*nin kimyasal yolla kemotaksisi gerçekleştirdiği düşünülmektedir.

Bakteriyal kemotaksis, cezbedici madde içermeyen hareketli bakteri süspansiyonu içine cezbedici madde içeren küçük bir kapillar tübün batırılması ile gösterilebilir. Cezbedici kimyasalın konsantrasyonu kapillar tübün ucuna yakın kısımda daha fazla olacak, ancak tübün ucundan uzaklaşıldıkça, bu madde giderek azalacak ve bir garidyent oluşacaktır (Şekil 4.62*a*●). Cezbedicinin bulunması halinde bakteriler bu maddeye doğru hareket eder ve tübün açık ucu çevresinde kümelenirler (Şekil 4.62*b*). Daha sonra hareketli bakterilerin çoğu kapillar içine girer. Hiç kuşkusuz bazı bakteriler rasgele hareket nedeniyle de kapillar içine girebilir (Şekil 4.62*c*). Ancak cezbedici varlığında, kapillar içindeki bakteri konsantrasyonu dışarıdakinin birkaç misli olabilir.

Diğer taraftan eğer kapillar içinde bakterileri uzaklaştıran bir bileşik varsa, kapillar içindeki bakteri konsantrasyonu dışarıdaki konsantrasyondan çok daha az olacaktır (Şekil 4.62d). Bu durumda





● **Şekil 4.62 Kemotaksis.** (a) Bakterilerdeki kemotaksisi ölçme teknikleri. Bakteri süspansiyonu içine kapiller tübün sokulması. Kapillerin girişiyle, gradiyent oluşumu başlar. (b) Bir cezbedici içeren kapiller içinde bakterilerin birikmesi. (c) Tuz çözeltisi içeren kontrol kapiller. Tuz çözeltisi çekici ya da itici özellikte değildir. Kapiller içindeki hücre konsantrasyonu dışarıdaki ile aynıdır. (d) İtici bir maddenin bakterileri uzaklaştırması. (e) Çeşitli kimyasallar içeren kapillerler içindeki hücre sayılarının zamana bağlı değişimi. (f) Mikroskoba eklenmiş video kamera sistemi kullanılarak çekilmiş ve dere suyu içindeki bir alg hücresi etrafında dolaşan hareketli bakteri hücrelerinin izlediği yolları gösteren fotoğraf (merkezdeki büyük beyaz leke, alg hücresidir). Bakteri hücrelerinin oksijen oluşturan alg hücresine doğru hareket ederek pozitif aerotaksis gösterdiklerine dikkat ediniz. Hücrelerin ortalama hızı yaklaşık 25μm/san.dir. Alg'in çapı yaklaşık 60μm'dir.

hücre, maddenin artan gradiyentini algılar ve uygun kemoreseptörler kamçı rotasyonunu etkileyerek, hücreyi bu maddeden uzaklaştırır (Şekil 4.62d). Çeşitli kimyasalların belirli bir bakteriyi cezbettiği ya da uzaklaştırdığı, kapillar yöntemi kullanılarak saptanabilir.

Kemotaksis mikroskobik olarak da gözlenebilir. Bakteri hücrelerinin zaman içindeki pozisyonlarını kaydeden ve her hücrenin izlediği yolu gösteren bir video kamera kullanarak, hücrelerin kemotaktik hareketlerini görmek mümkündür (Şekil 4.62f). Bu yöntem doğal ortamlardaki bakteriyal kemotaksis çalışmalarında kullanılacak şekilde adapte edilmiştir. Doğadaki bakteriler için temel kemotaktik ajanların daha büyük mikrobiyal hücreler ya da canlı veya ölü makroorganizmalar tarafından salınan besinler olduğu düşünülmektedir. Örneğin algler organik bileşikler ve O_2 üretir. Bu moleküller alg hücresine doğru kemotaksis yapılmasını stimüle ederler (Şekil 4.62*f*).

Fototaksis

Birçok fototrofik mikroorganizma ışığa doğru hareket eder. Bu olaya *fototaksis* denir. Fototaksisin avantajı, fotosentetik organizmaların fotosentez için gerekli ışığı etkinlikle alabilecek şekilde konumlanmalarına olanak vermesidir. Bu olay, mikroskop lâmı üzerindeki hareketli fotosentetik bakterilere bir ışık spektrumu uygulanarak gösterilebilir. Böyle bir uygulama sonucunda, lâm üzerindeki bakteriler kendi fotosentetik pigmentlerinin absorbladığı dalgaboyuna sahip ışık bölgesinde birikirler (Şekil 4.63*a*●; Kısım 17.2 ve 17.3).

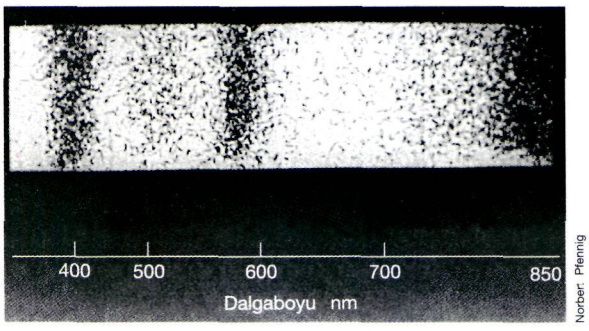
Fotosentetik prokaryotlarda iki farklı taksis görülür. Bunlardan birisi olan *skotofobotaksis* sadece mikroskobik olarak gözlenebilir ve fototrofik bakteri şans eseri mikroskobun aydınlık görüntü alanından karanlık dış kısma doğru yüzdüğü zaman gerçekleşir. Karanlığa girmek hücrenin enerji statüsü üzerinde olumsuz etki yaratır ve hücreye zıt yönde yuvarlanması için sinyal verir.

Fotosentetik mikroorganizmalar skotofobotaksise ek olarak, gerçek fototaksis de yapabilirler. Fototaksis ışık intensitesinin arttığı yöne doğru hareket etmek demektir. Bu olay pozitif kemotaksisin analoğudur. İki olay arasındaki fark fototaksisdeki cezbedicinin bir kimyasal değil, *ışık* olmasıdır. Çok hareketli fotosentetik bir organizma olan *Rhodospirillum centenum* (Bkz. Şekil 4.54) gibi bazı türlerde kolonideki bütün hücreler fototaksis gösterir ve hep birlikte ışığa doğru hareket ederler (Şekil 4.63b).

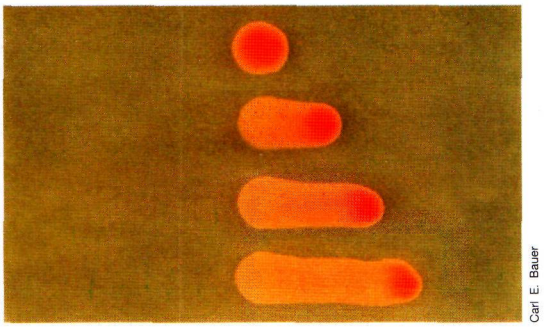
Kemotaksisi yöneten düzenleyici sistemdeki bazı kısımların fototaksisde de iş gördüğünü düşündürecek nedenler vardır. Kamçının dönüş yönünü kontrol eden sitoplazmik proteinler (Che proteinleri) bunlar arasındadır (Kısım 8.13). Bu sonuç fototaksis yapamayan mutant fototrofik bakteriler üzerinde yapılan çalışmalardan elde edilmiştir. Bu tip mutantların kemotaksis sistemleri de hasarlıdır. Kemoreseptörün analoğu olan ve kimyasalın gradiyentini değil de *ışık* gradiyentini algılama yeteneğine sahip bir *fotoreseptör* fototaksis cevabını yönetir. Eğer hücre intensitesi artan ışığa doğru yüzüyorsa, fotoreseptör kamçının dönüşünü etkileyen sitoplazmik proteinlerle etkileşerek, hücrenin koşma hareketinin sürmesini sağlar. Dolayısıyla, kemotaksis ve fototaksisdeki uyaranlar farklı olmasına rağmen, her iki tip sinyale karşı *aynı sitoplazmik mekanizma* kullanılmaktadır.

Diğer Taksisler

Diğer bakteriyal taksislerden biri, oksijene doğru veya ondan uzaklaşacak şekilde hareket etmek olan *aerotaksis* (Bkz. Şekil 4.62f), bir başkası da yüksek iyonik güce doğru veya ondan kaçacak şekilde hareket etmek olan *ozmotaksis*dir. Her iki olay da moleküler düzeyde aydınlatılmıştır. Bunlar basit davranış şekilleri olup, hepsinde ortak mekanizmalar olduğu görülmektedir. Bu mekanizmalar aracılığı ile hücreler periyodik olarak çevrenin durumunu algılamakta ve bu bilgiyi aygılayıcı ve cevap oluşturan protein ağları aracılığı ile değerlendirmektedir. Bu protein ağları kamçı dönüşünün yönünü kontrol etmektedir. Davranışsal açıdan bakıldığında, hareketli prokaryotların çevrelerindeki fiziksel ve kimyasal duruma göre tavır aldıkları görülür. Çeşitli uyaranlara doğru ya da onlardan kaçacak şekilde hareket edebilen bir hücre, mikrobiyal komünitede bir arada olduğu diğer türlerle, başarılı bir şekilde rekabet edebilir.



(a)



(b)

● **Şekil 4.63 Fototaksis.** (a) Fototrofik bir bakteri olan *Thiospirillum* jenense, pigmentlerinin absorbladığı dalgaboyundaki ışıkta skotofobik birikim gösteir. Yoğun bakteri süspansiyonu içeren mikroskop lâmı üzerinde ışık spektrumu oluşturulmuş ve belirli bir süre sonra seçici olarak uygun dalgaboyunda biriken hücrelerin fotoğrafı çekilmiştir. Birikimin gerçekleştiği dalgaboyu bakteriyoklorofil a'nın absorbladığı ışığın dalgaboyudur (Şekil 17.3b ile karşılaştırınız). (b) Mor fototrofik *Rhodospirillum centenum* bakterisine ait tüm bir kolonin 2 saat içinde gerçekleştirdiği fototaksis. Çok güçlü fototaksis yapan bu hücreler, sağ taraftaki ışık kaynağına doğru birlik içinde hareket ederler. *R. centenum* hücrelerinin elektron mikrografları için şekil 4.54'e bakınız.

4.16 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Hareketli bakteriler çevrelerindeki fiziksel ya da kimyasal gradiyentlere karşı cevap oluşturabilirler. Kemotaksis ve fototaksis süreçleri sırasında, prokaryotik hücrenin rasgele hareketi, uyarana doğru ya da ondan kaçacak şekilde ayarlanabilir. Bu kontrol koşma ya da takla atmanın gerçekleşme derecesi üzerinden sağlanır. Koşma hareketi kamçının dönüş yönü tarafından kontrol edilir. Kamçının dönüş yönü ise, algılayıcı cevap oluşturan protein örgüleri tarafından kontrol edilmektedir.

- *Kemotaksis* sözcüğünü tanımlayınız.
- Koşma yerine takla atmaya neden olan şey nedir?
- *Skotofobotaksis* ile *fototaksis* arasında ne fark vardır?

DEĞERLENDİRME SORULARI

1. Işık mikroskobisinde boyamanın işlevi nedir? Genel boyama amacıyla neden katyonik boyalar kullanılır (Kısım 4.1)?
2. *Diferansiyel interferens kontrast* mikroskobun aydınlık-alan mikroskoba göre ne gibi üstünlüğü vardır? *Faz-kontrast mikroskop* aydınlık-alan mikroskoba göre hangi üstünlüğe sahiptir (Kısım 4.2)?
3. Elektron mikroskoplar ışık mikroskoplarına göre hangi üstünlüğe sahiptir? Hücrenin üç boyutlu özelliklerini gözlemlemek için ne tip elektron mikroskop kullanmak gerekir (Kısım4.3)?
4. Prokaryotların en temel morfolojik özellikleri nelerdir? Listelediğiniz her morfolojik özelliği çizdiğiniz hücre resimleri üzerinde gösteriniz. Bir prokaryotun büyüklüğü ve küçüklüğü ne kadar olabilir? Alt sınırı üst sınırdan daha doğru saptamanın nedeni nedir? Çubuk şekilli bir bakteri olan *Escherichia coli*'nin boyutları nedir (Kısım 4.4)?
5. Ünit zarın yapısını bir cümle ile anlatınız (Kısım 4.5).
6. İyonlaşmış moleküllerin sitoplazmik zar engelini neden kolayca aşamadıklarını bir cümle ile açıklayınız. Bu gibi moleküller sitoplazmik zardan nasıl geçerler (Kısım 4.5 ve 4.6)?
7. *Bacteria* ile *Archaea* zarları arasındaki temel kimyasal fark nedir?
8. *Escherichia coli* hücreleri laktozu *Lac* permeaz sistemi ile, glukozu fosfotransferaz sistemi ile, maltozu ise ABC tipi aktarıcı ile içine alır. Bu şekerlerin her biri için aşağıdaki soruları yanıtlayınız: (1) taşıyıcı sistemlerinin bileşenleri ve (2) taşıma işlemini gerçekleştiren enerjinin kaynağı (Kısım 4.7).
9. Bakteri hücre duvarının sert tabakası neden *peptidoglikan* olarak adlandırılır? Peptidoglikan yapısının hücre duvarına sertlik kazandırmasının kimyasal nedenleri nelerdir (Kısım 4.8)?
10. Bakteri hücre duvarının lizozim ile erimesini laktoz neden stabilize eder (Kısım 4.8)?
11. Gram-negatif *Bacteria*'nın dış zarının işlevlerini listeleyeniz. Dış zarın kimyasal bileşimi nedir (Kısım 4.9)?
12. Polisakkarit tabakalar prokaryotlarda hangi işlev(ler)i yerine getirirler (Kısım 4.10)?
13. Prokaryotlar ne tip sitoplazmik inklüzyonlar oluştururlar? Polihidroksibütirik asit (PHB) inklüzyonu ile magnetozom arasında bileşim ve metabolik rol açısından ne gibi farklar vardır (Kısım 4.11)?
14. Gaz veziküllerinin işlevi nedir? Bu yapılar nasıl gazla dolu kalabilir (Kısım 4.12)?
15. Bakteriyal endospor ile vejetatif hücre arasında kimyasal bileşim, yapı ve aşırı çevresel koşullara dayanıklılık açısından ne gibi farklar olduğunu birkaç cümle ile açıklayınız (Kısım 4.13).
16. Aşağıdaki terimleri tanımlayınız: olgun endospor, vejetatif hücre ve germinasyon (Kısım 4.13).
17. Endosporlar ne kadar süre canlı kalabilir ve buna ait kanıt nedir (Kısım 4.13)?
18. Bakteriyal kamçının yapısını ve işlevini açıklayınız. Kamçının enerji kaynağı nedir (Kısım 4.14)?
19. *Flavobacterium*'un kayma hareketindeki mekanizma ile *Escherichia coli*'nin hareketi arasında ne fark vardır (Kısım 4.15)?
20. Hareketli bir bakterinin cezbedici maddenin yönünü nasıl algıladığını ve ona doğru nasıl hareket ettiğini birkaç cümle ile anlatınız (Kısım 4.16).

UYGULAMA SORULARI

1. Nümerik apertürü 1.32 olan 100× yağ-immersiyon merceği ile bir objeyi gözlemlemek için 600nm ışık kullanılırsa, çözümlenebilecek en küçük objenin boyutları ne olur? Aynı mercek kullanılarak çözünürlük nasıl artırılır?
2. Çapı 15μm olan küre biçiminde bir hücre ve çapı 2μm olan bir başka hücre verilmektedir. Bu hücrelerin yüzey alanları ile hacimleri arasındaki oranı hesaplayınız. Yüzey alanı/hacim oranındaki farklılıklar hücrenin işlevi üzerinde ne gibi sonuçlar ortaya çıkarır?
3. Size gram-negatif bir *Bacteria* türü, bir tane de *Archaea* türü olan iki kültür verildiğini düşünün. Ribozomal RNA dizilerinin saptanması (Kısım 2.3) dışında bu kültürlerden hangisinin ne olduğunu saptayabilecek en az dört farklı yol söyleyiniz.
4. Kimyasal cezbedici içeren 3mm uzunluğundaki kapiller bir tüp içinde maksimum hızla yüzen bir *Escherichia coli* hücresinin (1×3 μm) bu yolu ne kadar sürede katedeceğini hesaplayınız.

5 BESLENME, LABORATUVAR KÜLTÜRÜ VE MİKROORGANİZMALARIN METABOLİZMASI

Beslenme ve biyoenerjetiğin anlaşılması, laboratuvar ortamında mikroorganizmaları üretmek ve mikrobiyal hücrelerin kendi doğal habitatlarında nasıl bir "yaşam sürdürdüklerini" anlamak için gereklidir.

I BESLENME VE MİKROORGANİZMA KÜLTÜRÜ 102

5.1 Mikrobiyal Beslenme 102
5.2 Kültür Besiyerleri 105
5.3 Mikroorganizmaların Laboratuvar Kültürü 107

II ENERJİ VE ENZİMLER 108

5.4 Biyoenerjetik 108
5.5 Kataliz ve Enzimler 110

III OKSİDASYON-REDÜKSİYON VE ENERJİ AÇISINDAN ZENGİN BİLEŞİKLER 112

5.6 Oksidasyon-Redüksiyon 112
5.7 Redoks Elektron Taşıyıcısı Olarak NAD 114
5.8 Enerji Açısından Zengin Bileşikler ve Enerjinin Depolanması 116

IV MERKEZİ KATABOLİK YOLLAR, ELEKTRON TAŞINMASI VE PROTON MOTİVE GÜÇ 117

5.9 Enerjinin Korunması: Tercihler 117
5.10 Bir Fermentasyon Örneği Olarak Glikoliz 118
5.11 Solunum ve Zara-Bağlı Elektron Taşıyıcıları 120
5.12 Proton motive Güçten Enerji Eldesi 123

V SOLUNUMDA KARBON AKIŞI VE KATABOLİK ALTERNATİFLER 126

5.13 Solunumda Karbon Akışı: Sitrik Asit Döngüsü 127
5.14 Katabolik Alternatifler 127

VI BİYOSENTEZ 130

5.15 Şeker ve Polisakkarit Biyosentezi 130
5.16 Amino Asit ve Nükleotit Biyosentezi 131
5.17 Yağ Asitleri ve Lipidlerin Biyosentezi 132

BÖLÜMLE İLGİLİ SÖZLÜK

Aktivasyon enerjisi enzimin substrat(lar)ını reaktif duruma getirmek için gerekli olan enerji
Anabolizma hücredeki biyosentetik tepkimelerin tümü
Aseptik teknik çalışma sırasında mikrobiyal kültürlerin veya steril objelerin kontaminasyonuna engel olmak için alınan önlemler serisi
ATP sintaz (ATPaz) proton motive gücün ortadan kalkması ile eşleşmiş olan ATP sentezini katalizleyen ve sitoplazmik zara gömülü halde bulunan, çoklu-protein yapısındaki enzim kompleksi
Ekzergonik enerji açığa çıkaran
Elektron alıcısı elektron vericisinden elektronları alabilen ve bu sırada indirgenen madde
Elektron vericisi elektron alıcısına elektron verebilen ve bu sırada yükseltgenen madde
Endergonik enerjiye gereksinim duyan
Enzim özgül bir kimyasal tepkimeyi hızlandırabilen (katalizleyen) protein
Fermentasyon organik maddenin hem elektron alıcısı hem de elektron vericisi olarak görev yaptığı ve ATP'nin substrat seviyesinde fosforilasyon aracılığı ile üretildiği anaerobik katabolizma
Fotofosforilasyon ışık-güdümlü elektron taşınması sırasında oluşan proton motive güçten ATP üretilmesi
Glikoliz glukoz molekülünün ATP ve çeşitli fermentasyon ürünleri oluşturacak şekilde fermente olduğu biyokimyasal yol; aynı zamanda Embden-Meyerhof yolu olarak da isimlendirilir
Katabolizma hücre tarafından kullanılabilir enerji (genelde ATP) üretimine yol açan biyokimyasal tepkimeler
Katalizör kimyasal tepkimeyi hızlandıran, ancak tepkime sırasında tüketilmeyen madde
Kemiozmoz proton motive gücün ortadan kalkması ile eşleşmiş ATP sentez süreci
Koenzim enzimin bir parçası olarak katalitik tepkimelere katılan ve protein yapısında olmayan küçük molekül
Kompleks besiyeri maya ve et özütleri gibi kimyasal olarak tanımlanmamış maddeler içeren besi yeri
Kültür besiyeri mikroorganizmaların gelişmesi için uygun olan çeşitli besinleri içeren sıvı çözelti
Oksidatif fosforilasyon elektron taşınması ile oluşan proton motive gücün varlığında ATP üretimi
Ototrof tek karbon kaynağı olarak CO_2'i kullanarak, tüm hücre materyallerinin biyosentezini gerçekleştirebilen organizma
Proton motive güç zarın iki yüzeyi arasında yükün ve su elementlerinin (H^+'e karşı OH^-) ayrımından ortaya çıkan enerji yüklü zar durumu
Redüksiyon potansiyeli (E_0') maddenin içsel elektron bağışlama eğiliminin volt birimi cinsinden ölçülen değeri; E_0' standart koşullar altındaki redüksiyon potansiyelidir
Saf kültür tek tip organizma içeren kültür
Serbest enerji (*G*) iş yapmak için elverişli olan *enerji*; $G^{0'}$ standart koşullar altındaki serbest enerjidir
Siderofor çok düşük konsantrasyonlardaki demire bağlanarak kelat yapan bileşik
Sitrik asit döngüsü asetatın iki CO_2 molekülüne dönüştüğü döngüsel tepkimeler serisi
Solunum bir bileşiğin son elektron alıcısı olan O_2 (veya O_2 yerine geçen diğer bileşikler) ile oksitlendiği ve oksidatif fosforilasyon ile genelde ATP molekülünün üretildiği süreç
Substrat düzeyinde fosforilasyon fosfat grubu taşıyan bir organik bileşikteki enerji bakımından zengin fosfat molekülünün, doğrudan ADP molekülüne aktarılması ile ATP üretimi
Tanımlanmış besiyeri kimyasal bileşimi kesin olarak bilinen kültür besiyeri

I BESLENME VE MİKROORGANİZMA KÜLTÜRÜ

Bir hücre kendini eşlemeden önce, pek çok farklı kimyasal tepkimenin eşgüdümünü sağlamak ve molekülleri özgül yapılar içerisinde organize etmek zorundadır. Bu tepkimeler bütününe metabolizma adı verilir. Metabolik tepkimeler ya *enerji açığa çıkarır* ya da *enerjiye gereksinim duyarlar*. Enerji açıga çıkaranlara **katabolik tepkimeler (katabolizma)**, enerji gereksinenlere ise **anabolik tepkimeler (anabolizma)** adı verilir. Hücrelerde çeşitli katabolik ve anabolik tepkime setleri bulunur. Bunların en önemlilerinden bazılarını bu ve daha ilerideki bölümlerde inceleyeceğiz.

Ancak daha önce, mikroorganizmaların laboratuvarda nasıl geliştiklerini tartışacağız. Mikroorganizmaların metabolik aktiviteleri ile ilgili bilgilerimizin çoğu laboratuvar kültürleri ile yapılan çalışmalarla ortaya çıkarılmıştır. Buradaki konumuz karbon ve enerji için organik maddeleri gereksinen *kemoorganotroflar*'dır (Kısım 2.4). Bu bölümün daha sonraki kısımlarında, kemoorganotrofi dışındaki enerji-üreten mekanizmaları gözden geçireceğiz. Diğer biyoenerjetik seçenekleri kullanan bu tip organizmalar da laboratuvarda üretilebilir ve burada sözü edilen beslenme ve hücre kültürü ile ilgili temel prensiplerin çoğu onlar için de geçerlidir.

5.1 Mikrobiyal Beslenme

Hücrelerin esas olarak makromoleküller ve sudan oluştuğunu, ve bu makromoleküllerin de *monomer* olarak isimlendirilen küçük birimlerden meydana gelmiş polimerler olduğunu Bölüm 3'den anımsayalım (Kısım 3.2). Mikrobiyal beslenme, hücrelerin büyümesi için gerekli olan monomerlerin (ya da monomer öncüllerinin) sağlanmasıyla ilgilenen mikrobiyal fizyoloji konusudur. Hücrelere gerekli olan bu maddelerin tümü **besin** olarak adlandırılır.

Farklı organizmalar genelde farklı besin gruplarına gereksinim duyarlar. Farklı özgül formlarda bulunabilen bu besinlerin tümüne aynı miktarlarda ihtiyaç duyulmaz. *Makrobesin* (Tablo 5.1) olarak isimlendirilen bazı besinlere fazla miktarlarda ihtiyaç duyulurken, *mikrobesin* olarak isimlendirilen diğerlerine çok az miktarlarda hatta bazen eser miktarlarda ihtiyaç duyulmaktadır. Öncelikle temel makrobesinler olan *karbon* ve *azotu* inceleyeceğiz.

Karbon ve Azot

Tüm hücreler karbona ihtiyaç duyarlar. Prokaryotların çoğu karbon kaynağı olarak *organik madde*ye gereksinim duyar. Kuru ağırlık esas alındığında tipik bir hücrenin %50'si ve tüm makromolekül sınıflardaki en temel element karbondur. Bakteriler farklı organik karbon bileşiklerini özümseyebilir ve yeni hücre materyallerini yapmak için bunları kul-

Tablo 5.1 Doğadaki ve kültür besiyerlerindeki makrobesinler

Element	Doğada bulunan besin formu	Kültür ortamına eklenen kimyasal form
Karbon (C)	CO_2, organik maddeler	Glukoz, malat, asetat, piruvat, amino asitler, yüzlerce farklı bileşik ya da kompleks karışım (maya özütü, pepton, vb)
Hidrojen (H)	H_2O organik maddeler	H_2O, organik maddeler
Oksijen (O)	H_2O, O_2, organik maddeler	H_2O, O_2, organik maddeler
Nitrojen (N)	NH_3, NO_3^-, N_2, organik azot bileşikleri	*İnorganik*: NH_4Cl, $(NH_4)_2SO_4$, KNO_3,N_2 *Organik*: Amino asitler, nükleotitlerin azotlu bazları, N içeren diğer organik maddeler
Fosfor (P)	PO_4^{3-}	KH_2PO_4, Na_2HPO_4
Kükürt (S)	H_2S, SO_4^{2-}, organik S bileşikleri, metal sülfürler (FeS, CuS, ZnS, NiS, vb.)	Na_2SO_4, $Na_2S_2O_3$, Na_2S, sistein, veya diğer organik kükürt bileşikleri
Potasyum (K)	çözeltide K^+ veya çeşitli K tuzları olarak	KCl, KH_2PO_4
Magnezyum (Mg)	çözeltide Mg^{+2} veya çeşitli Mg tuzları olarak	$MgCl_2$, $MgSO_4$
Sodyum (Na)	çözeltide Na^+ veya NaCl veya diğer Na tuzları olarak	NaCl
Kalsiyum (Ca)	çözeltide Ca^+ ^{2}veya $CaSO_4$ veya diğer Ca tuzları olarak	$CaCl_2$
Demir (Fe)	çözeltide Fe^{+2} veya Fe^+ ^{3}veya FeS, $Fe(OH)_3$, veya diğer Fe tuzları	$FeCl_3$, $FeSO_4$, kelatlanmış demir çözeltileri (Fe^{+3} EDTA, Fe^{+3} sitrat vb)

lanırlar. Amino asitler, yağ asitleri, organik asitler, şekerler, azotlu bazlar, aromatik maddeler, ve çok sayıdaki diğer organik maddelerin biri ya da bir diğeri bakteriler tarafından kullanılır. Bunun aksine, bazı prokaryotlar *ototrof*dur. Bunlar tüm hücresel yapılarını *karbon dioksit*den (CO_2) sentezleyebilirler. Bu işlem için gerekli olan enerji ya ışıktan ya da inorganik kimyasallardan sağlanır.

Karbondan sonra hücrede en bol bulunan element **azot**tur. Tipik bir bakteri hücresinin kuru ağırlığının yaklaşık %12'si azottan oluşur. Azot proteinler, nükleik asitler ve diğer hücre birleşenleri için gereklidir. Azot doğada hem organik hem de inorganik formda bulunmakla birlikte (Tablo 5.1) bu azotun büyük kısmı amonyak (NH_3), nitrat (NO_3^-) ya da N_2 halinde olup, inorganik formdadır. Bakterilerin çoğu tek azot kaynağı olarak amonyağı kullanırken, diğerleri aynı zamanda nitratı da kullanabilir. Bununla beraber, *azot-fikse eden bakteriler* için tek azot kaynağı azot gazı (N_2)dır. Bu organizmaların özelliklerini daha detaylı olarak ilerideki bölümlerde tartışacağız (Kısım 12.9, 17.28, ve 19.12).

Diğer makrobesinler: P, S, K, Mg, Ca, Na

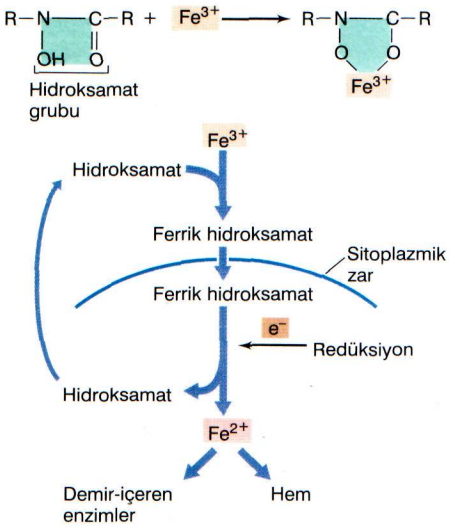
Fosfor doğada organik ya da inorganik fosfat formunda olabilir ve hücrede öncelikli olarak nükleik asitlerin ve fosfolipidlerin sentezi için gereklidir. Sistein ve metionin gibi amino asitlerin (Kısım 3.6), tiyamin, biyotin ve lipoik asit gibi bazı vitaminlerin ve koenzim A'nın yapısında **kükürt** bulunur. Organizmalar çeşitli kükürt formlarını kullanabilir. Doğadaki kükürt, çoğu yalnızca mikroorganizmalar tarafından gerçekleştirilen çeşitli kimyasal dönüşümlere uğrar (Kısım 19.13). Hücredeki kükürtün çoğu ya sülfat (SO_4^{-2}) ya da sülfit (HS^-) halindeki inorganik kaynaklardan sağlanmaktadır (Tablo 5.1).

Potasyum tüm organizmalar için gereklidir. Protein sentezinde görev yapanlar da dahil olmak üzere, çeşitli enzimler aktivite gösterebilmek için özgül olarak potasyuma gereksinim duyarlar. **Magnezyum** ribozomları, zarları ve nükleik asitleri kararlı hale getirmede işlev görmesinin yanı sıra, pek çok enzimin aktivitesi için de gereklidir. Çoğu mikroorganizmanın gelişimi için gerekli bir besin olmayan kalsiyum, hücre duvarını stabilize etmeye yardımcı olur ve endosporların ısıya karşı direnç göstermelerinde çok önemli bir rol oynar (Kısım 4.13). **Sodyum** tüm organizmalar için olmasa da bazı organizmalar için gereklidir ve sodyuma gereksinim duyulması tipik olarak organizmanın habitatını yansıtır. Örneğin, deniz suyunun sodyum içeriği oldukça yüksektir ve deniz mikroorganizmaları gelişebilmek için genelde sodyuma ihtiyaç duyarlar. Bunun aksine, bunlarla yakın akraba olan tatlı su türleri sodyum yokluğunda yaşayabilir.

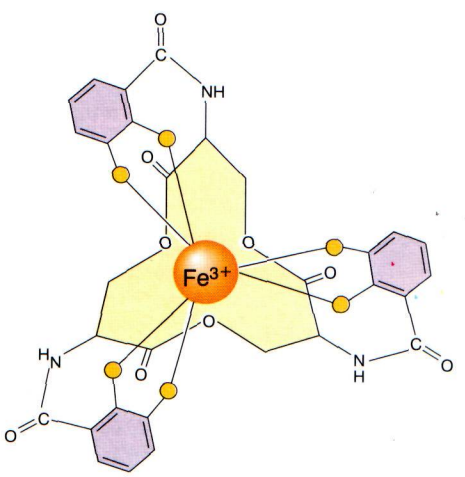
Demir

Demir, elektron taşınmasında görev alan sitokromların ve demir-kükürt proteinlerinin önemli bileşeni olarak hücre solunumunda oldukça önemli bir rol oynar (Bkz. Kısım 5.11 ve Tablo 5.2). Oksijensiz koşullar altında demir genelde +2 oksidasyon durumunda (ferrus, Fe^{+2}) ve çözünmüş haldedir. Buna karşılık, oksijenli koşullarda demir genelde +3 oksidasyon durumunda (ferrik, Fe^{+3}) olup, çözünmeyen çeşitli mineraller oluşturur. Hücreler bu tür minerallerden demir elde etmek için, demire bağlanıp onu hücre içine aktaran ve **sideroforlar** olarak isimlendirilen demir-bağlayıcı ajanlar üretirler. Temel siderofor gruplarından birisi, ferrik demiri güçlü bir şekilde kelatlayan *hidroksamik asit* türevlerini içerir (Şekil 5.1*a*●). Demir-hidroksamat kompleksi hücreden içeri girdikten sonra, demiri serbest bırakır ve hücre dışına çıkarılan hidroksamat demir taşınması için tekrar kullanılır.

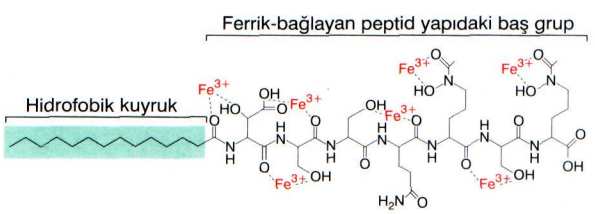
Escherichia coli ve *Salmonella typhimurium* gibi bakteriler, **enterobaktinler** olarak adlandırılan kompleks yapılı fenolik sideroforlar üretirler (Şekil 5.1*b*). Bu sideroforlar aromatik bir bileşik olan katekol türevi olup, demir için olağanüstü yüksek bağlanma eğilimindedirler. Demir genelde hayvan-



(a)



(b)



(c)

● **Şekil 5.1 Mikroorganizmalar tarafından üretilen demir kelatlayan ajanlar.** (a) Hidroksamat. Demir, Fe^{+3} olarak bağlanır ve Fe^{+2} olarak hücre içinde serbest bırakılır. Hidroksamat daha sonra hücreyi terk eder ve döngüyü tekrarlar. (b) *Escherichia coli*'de ferrik enterobaktin. Katekol moleküllerindeki oksijen atomları sarı ile gösterilmiştir. (c) Demir-bağlayan peptid yapıdaki baş kısım ile hidrofobik kuyruk kısmı taşıyan bir siderofor olan akuakelin. Hidrofobik kuyruk, akuakelin molekülünün zardan hücre içine geçmesine yardımcı olur.

sal dokularda kısa süreli depolanır; çünkü demir temizleme sistemleri demiri bağlar ve mikroorganizmalar için kullanılamaz duruma getirir (Kısım 21.7 ve 21.8).

Deniz sularındaki demir neredeyse hiç fark edilmeyecek düzeydedir. Örneğin, okyanusların yüzey suları tipik olarak mililitrede birkaç *pikogram* (bir pikogram 10^{-12}g'dır) demir içerir. Bu durumla baş edebilmek için, pek çok deniz bakterisi çok küçük miktarlardaki demiri tutuklayabilen kompleks yapılı sideroforlar üretirler. Bu sideroforlar, Fe^{+3} ile kompleks oluşturan peptid yapıdaki bir baş kısım ve sitoplazmik zar ile ilişki kuran lipid yapıda bir kuyruk içermektedir. Akuakelin (Şekil 5.1*c*) yapısındaki bileşikler demiri bağlar bağlamaz, lipid-benzeri miseller oluşturacak şekilde kümelenir ve bağlı demiri hücrenin içine aktarırlar.

Bazı prokaryotlar hiç demir içermeyen ortamlarda yaşayabilirler. Örneğin, *Lactobacillus plantarum* ve *Borrelia burgdorferii* bakterileri (ikincisi Lyme hastalığı etkenidir, Kısım 27.4) demir içermez. Bu bakterilerin normalde Fe^{+2} içermesi gereken enzimlerinde, metal bileşen olarak demir yerine Mn^{+2} bulunur.

Mikrobesinler (İz Elementler)

Her ne kadar sadece eser miktarlarda ihtiyaç duyulsa da, *mikrobesinler* hücre işlevleri için yine de hayati önem taşırlar. Mikrobesinler (örneğin demir) metal oldukları için, sıklıkla *iz elementler* olarak adlandırılırlar. Mikrobesinler, hücrelerin katalizörleri olan çeşitli enzimlerin bileşeni olarak görev yaparlar. Tablo 5.2'de hücrelerdeki temel mikrobesinler özetlenmekte ve her birinin birlikte işlev yaptığı enzimlere ait örnekler verilmektedir.

Mikroorganizmaların rutin laboratuvar kültürleri için, kültür ortamına iz elementlerin eklenmesi genelde gereksizdir; çünkü bunlara çok az gereksinim vardır. Bununla birlikte, eğer kültür ortamı çok saf distile su içerisinde çözünmüş oldukça saf kimyasalları içeriyorsa, iz element eksikliği olabilir. Bu gibi durumlarda, gerekli olan metalleri temin edebilmek için, seyreltik iz element (Tablo 5.2) çözeltisinin besi yerine eklenmesi gerekmektedir.

Gelişme Faktörleri

Gelişme faktörleri *organik* maddeler olup, bunlara da tıpkı mikrobesinler gibi sadece bazı hücreler tarafından ve çok az miktarlarda gereksinim duyulur. Vitaminler, amino asitler, pürin ve pirimidinler gelişme faktörleri olarak işlev görürler. Her ne kadar mikroorganizmaların çoğu bu maddeleri sentezleyebilseler de, bazı mikroorganizmalar bunların bir ya da bir kaçını çevreden hazır olarak alır. Bu nedenle laboratuvar kültürlerinde bu maddelerin ortama eklenmesi gerekmektedir.

Vitaminler en yaygın olarak ihtiyaç duyulan gelişme faktörleridir. Vitaminlerin çoğu koenzimlerin bileşenleri olarak işlev görürler (Bkz. örneğin, Şekil 5.10, 5.12 ve 5.15). Tablo 5.3 de bunlar özetlenmiştir. Mikroorganizmalar arasında vitamin gereksinimi

açısından büyük farklılıklar vardır. *Streptococcus, Lactobacillus, Leuconostoc* cinslerini içine alan laktik asit bakterileri ve diğer bakterilerin (Kısım 12.19) çoklu vitamin ihtiyacı insanların gereksindiklerinden bile daha fazladır (Bkz. Tablo 5.4). Mikroorganizmaların en yaygın olarak gereksindiği vitaminler tiyamin (vitamin B_1), biyotin, piridoksin (vitamin B_6) ve kobalamin (vitamin B_{12}) dir.

Tablo 5.2 Organizmaların gereksindiği mikrobesinler (iz elementler)[a]

Element	Hücresel İşlevi
Bor (B)	Bakterilerdeki quorum sensing için otoindükleyici bacteria; aynı zamanda bazı poliketid antibiyotiklerde bulunur
Krom (Cr)	Memelilerde glukoz metabolizması için gereklidir; mikrobiyal olarak ihtiyaç yok
Kobalt (Co)	Vitamin B_{12}; transkarboksilaz (propiyonik asit bakterisi)
Bakır (Cu)	Solunum, sitokrom *c* oksidaz; fotosentez, plastosiyanin, bazı süperoksit dismutazlar
Demir (Fe)[b]	Sitokromlar; katalaz; peroksidaz; demir-kükürt proteinleri; oksigenazlar; tüm nitrojenazlar
Manganez (Mn)	Pek çok enzimin aktivatörü, belli bazı süperoksit dismutazlarda ve oksijenik fototroflarda (Fotosistem II) suyu parçalarına ayıran enzimde mevcut
Molibden (Mo)	Flavin-içeren bazı enzimler; bazı nitrojenazlar, nitrat redüktazlar, sülfit oksidazlar, DMSO-TMAO redüktazlar, bazı format dehidrogenazlar
Nikel (Ni)	Hidrogenazların çoğu, metanogenlerdeki koenzim F_{430}; karbon monoksit dehidrogenaz; üreaz
Selenyum (Se)	Format dehidrogenaz; bazı hidrogenazlar; selenosistein amino asidi
Tungsten (W)	Bazı format dehidrogenazlar; hipertermofillerin oksotransferazları
Vanadium (V)	Vanadium nitrojenaz; bromoperoksidaz
Çinko (Zn)	Karbonik anhidraz; alkol dehidrogenaz; RNA ve DNA polimeraz; ve birçok DNA bağlanma proteinleri

[a] Listede adı geçen mikrobesinlerin hepsi tüm hücreler için gerekli değildir. Listede yer alan metallerden bazıları sadece özel mikroorganizmalardaki enzimlerde bulunur.

[b] Diğer iz metallere kıyasla daha fazla miktarlarda gereklidir.

5.1 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Canlı bir hücrede bulunan yüzlerce kimyasal bileşik, besin olarak isimlendirilen başlangıç materyallerinden oluşturulur. Oldukça fazla miktarlarda ihtiyaç duyulan elementler makrobesinler adını alırken, çok daha az miktarlarda ihtiyaç duyulan metallere mikroelementler, organik maddelere ise büyüme faktörleri adı verilir.

- Hücredeki *azot*un büyük kısmı hangi iki makromolekül sınıfında bulunur?
- C gibi elemetler *makro*besin olarak değerlendirilirken, Co^{2+} gibi elementler neden *mikro*besin olarak isimlendirilir?
- Demir hücre metabolizmasında ne gibi roller oynar? Hücreler demiri nasıl tutuklar?

5.2 Kültür Besiyerleri

Kültür ortamı, mikroorganizmaların laboratuvarda üretilmesi için kullanılan besin çözeltileridir. Laboratuvar kültürü mikroorganizmaların ayrıntılarıyla çalışılması için gerekli olduğundan, besi yerinin hem hazırlanmasında, hem de seçiminde özen gösterilmelidir. Başarılı bir kültür ancak bu şekilde elde edilebilir.

Kültür Besiyeri Çeşitleri

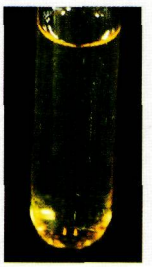
Mikrobiyolojide kullanılan iki büyük kültür besiyeri sınıfı vardır: *kimyasal olarak tanımlanmış* olanlar ve *kimyasal olarak tanımlanmış olmayanlar (komples besiyerleri).* **Kimyasal olarak tanımlanmış besiyerleri** (kısaca **tanımlanmış besiyerleri**), miktarları kesin olarak bilinen oldukça saf inorganik ya da organik kimyasalların distile suya eklenmesi ile hazırlanır. Bu nedenle, tanımlanmış besiyerinin kimyasal bileşimi kesin olarak bilinir. Herhangi bir kültür besiyerinin en önemli bileşeni *karbon kaynağı*dır; çünkü bütün hücreler yeni hücre materyallerini yapabilmek için çok miktarda karbona gereksinim duyar. *Basit tanımlanmış bir besiyerinde* (Tablo 5.4), *tek bir* karbon kaynağı mevcuttur. Karbon kaynağının niteliği ve derişimi kültürü yapılacak olan organizmaya bağlıdır.

Üremekte olan çoğu organizma için besiyerinin net ve kesin bileşimini bilmek gerekli değildir. Bu

Tablo 5.3 Üreme faktörleri: Vitaminler ve işlevleri

Vitamin	İşlevi
p-Aminobenzoik asit	Folik asit öncülü
Folik asit	Tek-karbon metabolizması; metil grup transferi
Biyotin	Yağ asitleri biyosentezi; β-dekarboksilasyonlar; bazı CO_2 fiksasyon tepkimeleri
Kobalamin (B_{12})	Tek karbon fragmanlarının redüksiyonu ve transferi; deoksiriboz sentezi
Lipoik asit	Piruvat ve α-ketoglutarat dekarboksilasyonunda açil gruplarının transferi
Nikotinik asit (niasin)	NAD^+ öncülü (Bkz. Şekil 5.10); oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinde elektron transferi
Pantotenik asit	Koenzim A öncülü; asetil ve diğer açil türevlerinin aktivasyonu
Riboflavin	FMN (Bkz. Şekil 5.10) ve elektron taşınmasında gerekli olan flavoproteinlerdeki FAD'nin öncülü
Tiyamin (B_1)	α-Dekarboksilasyonlar; transketolaz
Vitamin B_6 (piridoksal-piridokamin grubu)	Amino asit ve keto asit transformasyonları
Vitamin K grubu; kinonlar	Elektron taşınması; sfingolipid sentezi
Hidroksamatlar	Demir-bağlayan bileşikler; demirin çözünür halegetirilmesi ve hücre içine aktarımı

Tablo 5.4 Besin gereksinimi olan ve olmayan mikroorganizmalar için hazırlanan kültür besiyeri örnekleri[a]

***Escherichia coli* için tanımlanmış besiyeri**	***Leuconostoc mesenteroides* için tanımlanmış besiyeri**	***E. coli* veya *L. mesenteroides* için kompleks besiyeri**
K_2HPO_4 7 g KH_2PO_4 2 g $(NH_4)_2SO_4$ 1 g $MgSO_4$ 0.1 g $CaCl_2$ 0.02 g Glukoz 4-10 g İz elementler, (Fe, Co, Mn, Zn, Cu, Ni, Mo) her birinden 2-10 μg Distile su 1000ml pH 7	K_2HPO_4 0.6 g KH_2PO_4 0.6 g NH_4Cl 3 g $MgSO_4$ 0.1 g Glukoz 25 g Sodyum asetat 20 g Amino asitler; (alanin, arjinin, asparajin, aspartat, sistein, glutamat, glutamin, glisin, histidin, izolösin, metionin, fenilalanin, prolin, serin, lösin, lizin, treonin, triptofan, tirozin, valin) her birinden 100-200 μg Pürin ve pirimidinler (adenin, guanin, urasil, ksantin) her birinden 10mg Vitaminler (biyotin, folat, nikotinik asit, piridoksal, piridoksamin, piridoksin, riboflavin, tiyamin, pantotenat, *p*-aminobenzoik asit) her birinden 0.01-1 mg İz elementler; her birinden 2-10 μg (ilk kolona bakınız) Distile su 1000ml pH 7	Glukoz 15 g Maya özütü 5 g Pepton 5 g KH_2PO_4 2 g Distile su 1000 ml pH 7
(a)		 (b)

[a] Tanımlanmış besiyeri (a) ve kompleks besiyeri (b) içeren tüplerin fotoğrafları. İçerdiği organik özütler ve sindirilmiş ürünlerden dolayı kompleks besiyerinin renkli olduğuna dikkat ediniz. Fotoğraflar Cheryl L. Broadie and John Vercillo, Southern Illinois University at Carbondale izni ile yayınlanmıştır.

gibi durumlarda, kompleks besiyeri yeterli hatta avantajlı bile olabilir. **Kompleks besiyeri** hayvansal ya da bitkisel parçalanma ürünleri bulunur. Bunlar arasında örneğin, kazein (süt proteini), sığır eti, soya fasülyesi, maya hücreleri ya da henüz kimyasal olarak tanımlanmamış oldukça besleyici diğer maddeler yer alır. Bu özütler toz şeklinde ticari olarak satın alınır ve besiyerini hazırlamak için çok kolaylıkla tartılıp distile su içinde çözülür. Bununla birlikte, kompleks besiyeri kullanmanın en önemli dezavantajı bileşiminin kesin olarak kontrol edilememesidir.

Belirli durumlarda, özellikle klinik mikrobiyolojide, kültür ortamları *selektif* veya *diferansiyel* şekilde hazırlanır (veya her iki şekilde). **Selektif besiyeri** bazı mikroorganizmaların üremesini seçici olarak engellerken diğerlerini engellemez. Buna karşılık, **diferansiyel besiyeri,** genelde boya gibi bir takım indikatörlerin eklendiği bir besiyeridir. Bu besiyeri gelişme sırasında gerçekleşen belirli kimyasal tepkimelerin ayırt edilmesine olanak sağlar. Diferansiyel besiyeri, bazı tepkimeleri gerçekleştirebilen ya da gerçekleştiremeyen bakteri türleri arasında ayrım yapabilmek için oldukça kullanışlıdır. Diferansiyel ve selektif besiyerleri Bölüm 24'de tartışılmıştır.

Besin Gereksinimleri ve Biyosentetik Kapasite

Tablo 5.4 kültür besiyerleri için, ikisi tanımlanmış biri kompleks olacak şekilde üç reçete vermektedir. Kompleks besiyeri ortamı hazırlanışı en kolay olan besiyeri olup, tabloda gösterilen enterik *Escherichia coli* bakterisinin ve oldukça müşkülpesent (besin talebi fazla) bir laktik asit bakterisi olan *Leuconostoc mesenteroides*'in gelişimini en iyi şekilde destekler.

Tablo 5.4'de verilen basit tanımlanmış besiyeri, *E. coli* için mükemmel bir gelişme ortamı olmakla birlikte, *L. mesenteroides*'in üremesi için uygun değildir. *L. mesenteroides*'in tanımlanmış besi yerinde gelişimi için, *E. coli*'nin gereksinmediği çeşitli organik besin ve gelişme faktörlerinin ortama eklenmesi gerekir. *E. coli* mi yoksa *L. mesenteroides* mi daha fazla biyosentetik kapasiteye sahiptir? Bu sorunun cevabı *E.coli*'dir; çünkü bu bakterinin basit tanımlanmış bir kültür besiyerinde gelişme yeteneği, glukoz gibi tek bir karbon kaynağından, tüm organik bileşenlerini sentezleyebildiği anlamına gelmektedir (Tablo 5.4).

E. coli'nin aksine, *L. mesenteroides*'in birçok gelişme faktörüne ve temel organik besinlere (örneğin amino asit) ihtiyacı vardır. Bu durum bu bakterinin sınırlı biyosentetik kapasiteye sahip olduğunu göstermektedir. *L. mesenteroides*'in kompleks besin gereksinimlerinin sağlanabilmesi için ya Tablo 5.4'de gösterilen tanımlanmış bir besiyeri hazırlamak (her ne kadar bunu hazırlamak saatler alsa da), ya da genelde daha çabuk hazırlanan kompleks besiyeri (Tablo 5.4) kullanmak gerekir.

Bazı patojenik mikroorganizmaların besin gereksinimleri *L. mesenteroides*'den bile fazladır. Bu organizmaların kültürü için, *zenginleştirilmiş besiyeri* gerekli olabilir. **Zenginleştirilmiş besiyeri,** serum ya da tam kan gibi ilave besinlerin eklendiği kompleks bir ortamdır. Ortama eklenen bu besinler konakçıdaki koşulları oldukça iyi taklit eder ve *Streptococcus pyogenes* ve *Neisseria gonorrheae* gibi organizmaların başarılı laboratuvar kültürleri için gereklidir.

Tablo 5.4 den çıkarılan en temel sonuç *farklı mikroorganizmaların büyük çapta farklı besin gereksinimleri*

olabileceğidir. Dolayısıyla, başarılı bir mikroorganizma kültürü yapabilmek için, o mikroorganizmanın besin gereksinimlerini anlamak ve daha sonra bu besinleri uygun formlarda ve oranlarda kültür besiyerine eklemek gerekmektedir. Eğer kültür besiyeri hazırlanırken gerekli dikkat gösterilirse, laboratuvarda farklı tipte pek çok mikroorganizmanın kültürünü hazırlamak oldukça kolaydır. Mikroorganizma kültürü için gerekli olan işlemleri şimdi tartışacağız.

5.2 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Kültür besiyeri mikroorganizmaların besin gereksinimlerini karşılar. Bu ortam kimyasal olarak tanımlanmış ya da tanımlanmamış (kompleks) olabilir. Seçici, diferansiyel ve zenginleştirilmiş terimleri, belirli türlerin izolasyonu ya da karşılaştırmalı mikroorganizma çalışmaları için kullanılan besiyerlerini tanımlayan ifadelerdir.

- *Leuconostoc mesenteroides* suşlarının rutin kültürü için kimyasal olarak tanımlanmış besiyeri yerine, kompleks besiyeri kullanmak daha kolaydır. Neden?
- *E. coli*'nin kompleks besiyerinde mi yoksa tanımlanmış besiyerinde mi daha hızlı üreyeceğini düşünüyorsunuz (Tablo 5.4)? Neden?

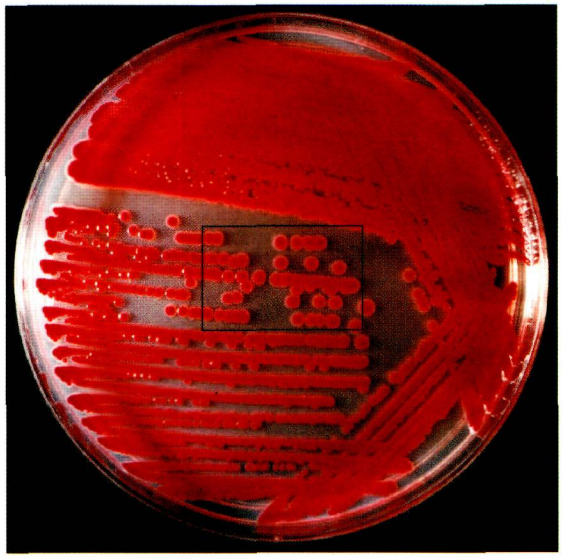
5.3 Mikroorganizmaların Laboratuvar Kültürü

Kültür besiyeri hazırlanıp, tüm mikroorganizmalardan arındırmak için steril edildikten sonra, inoküle edilip (yani organizma eklenip), mikrobiyal gelişimi destekleyecek koşullar altında inkübasyona bırakılır. Laboratuvar koşullarında inokülasyon için **saf kültür** kullanılır. Saf kültür, sadece *tek tip* mikroorganizma içeren kültür demektir.

Diğer organizmaların saf kültür besiyerine girişlerinin engellenmesi gerekmektedir. *Kontaminant* olarak isimlendirilen bu tip istenmeyen organizmalara çok sık rastlanır (Pasteur'ün 125 yıl önce keşfettiği gibi, Kısım 1.6). Kontaminasyonu önlemek için mikrobiyolojik teknikler tasarlanmıştır. Saf kültür elde etmek ve kültürün saflık kontrolu için en temel yöntem, Petri plaklarında hazırlanmış katı besiyeri kullanmaktır. Şimdi bu konuyu inceliyeceğiz .

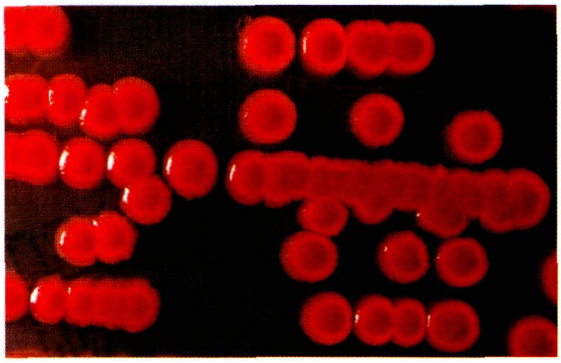
Katı ve Sıvı Kültür Besiyerleri

Bazı hallerde kültür besiyerleri jelimsi bir maddenin sıvı ortamlara eklenmesiyle, yarı-katı formda hazırlanır. Bu tür katı kültür besiyerleri hücreleri hareketsiz hale getirir, çoğalmalarına ve *koloni* olarak isimlendirilen gözle görülür, izole edilebilir kütlelerin oluşmasına olanak sağlar (Şekil 5.2●). Bakteri kolonileri



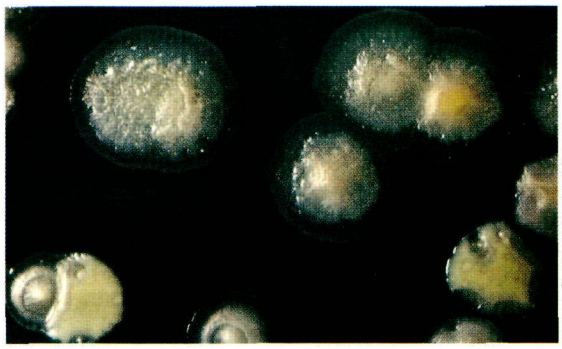
James A. Shapiro, University of Chicago

(a)



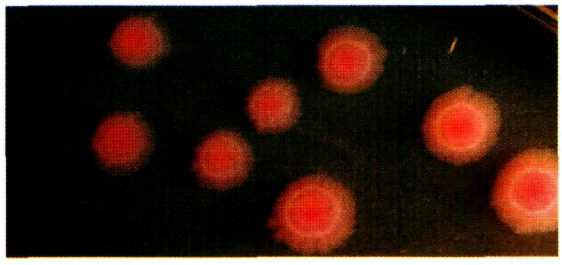
James A. Shapiro, University of Chicago

(b)



James A. Shapiro, University of Chicago

(c)



James A. Shapiro, University of Chicago

(d)

● **Şekil 5.2 Bakteriyal koloni örnekleri.** Koloniler, bir ya da bir kaç hücrenin ardı ardına bölünmesiyle oluşan ve gözle görülebilen hücre kütleleridir. Bakteri kolonisinin büyüklüğü, şekli, dokusu ve rengi bu koloniyi oluşturan organizma tarafından belirlenir. Bir kolonide hücre sayısı kolonideki hücrelerin büyüklüğüne ve yerleşimlerine bağlı olarak değişir. Bir *milyardan* fazla hücre içeren koloniler hiç de sıra dışı değildir. (a) MacConkey agarda gelişen *Serratia marcescens*. (b) a'da görülen kolonilerin büyütülmüş hali. (c) Tripticase-Soy agarda gelişen *Pseudomonas aeruginosa*. (d) MacConkey agarda gelişen *Shigella flexneri*

organizmanın tipine, kültür koşullarına, besin desteğine (mevcut oksijen miktarı da dahil olmak üzere) ve çeşitli fizyolojik parametrelere bağlı olarak çeşitli şekillerde ve büyüklüklerde olabilirler. Bazı bakteriler, kolloninin renklenmesine sebep olan pigmentler üretirler (Şekil 5.2). Mikrobiyologlar kültürün saflığını kolonileri gözlemleyerek anlarlar. Birden fazla koloni tipine sahip olan plaklar kontamine olmuş bir kültürün göstergesidir. Petri plakları 100 yıldan fazla bir zamandan beri kültürün saflığı için bir kriter olarak kullanılmaktadır (Kısım 1.6).

Katı besiyerleri de sıvı besiyerleri gibi hazırlanmakla birlikte, bu ortama sterilizasyon işleminden önce jelleştirici ajan olarak *agar* eklenir. Eklenen agar genellikle %1.5 konsantrasyondadır (Mikrobiyal Okuma Parçası, Katı Besiyeri, Petri Plağı ve Saf Kültürler, Bölüm 1). Sterilizasyon sırasında agar erir. Erimiş besiyeri daha sonra steril cam veya plastik kaplara dökülür ve kullanmadan önce katılaşması sağlanır (Şekil 5.2).

Aseptik Teknik

Mikroorganizmalar her yerde bulunduklarından, kullanmadan önce kültür besiyerinin steril edilmesi gerekmektedir. Pek çok kültür besiyeri ısı ile sterilize edilir. Bu işlem, nemli sıcaklık sağlayan ve **otoklav** adı verilen yüksek basınçlı cihaz içinde yapılır. Otoklav cihazının nasıl çalıştığını ve prensiplerini diğer sterilizasyon yöntemlerinin anlatıldığı ileriki bölümlerde tartışacağız.

Steril kültür besiyeri hazırlandıktan sonra, daha önce üretilmiş olan saf kültür ile inoküle edilir. Bu işlem **aseptik teknik** ile yapılır. Bu teknik, kültür ve steril kültür besiyeri ile çalışılırken, kontaminasyonu engellemek için kullanılan basamaklar serisidir (Şekil 5.3● ve 5.4●). Mikrobiyoloji laboratuvarında başarının sağlanması için aseptik teknikte ustalık gerekir ve acemi bir mikrobiyoloğun öğrenmesi gereken ilk yöntemlerden birisi budur. Havadan kaynaklanan kontaminasyon oldukça yaygın olan bir problemdir; çünkü laboratuvar havası pek çok mikroorganizma topluluğunun yaşadığı toz partiküllerini içermektedir. Kültür kabının ağzı açıldığında, kontaminant yüklü havanın kabın içine girmesine izin vermeyecek şekilde muamele edilmelidir (Şekil 5.3 ve 5.4).

Kültürün, aseptik besiyeri içeren bir tüpten diğerine aktarımı, inokülasyon için kullanılan öze veya iğne ile yapılır. İnokülasyondan önce öze ya da iğne alevden geçirilerek sterilize edilir (Şekil 5.3). Sıvı kültürlerdeki hücreler agar plakları üzerine de aktarılabilir (Şekil 5.4). Agar üzerine aktarılan hücrelerin her biri gelişip, bölünerek koloniler oluşturur. Farklı organizmalar içeren bir mikroorganizma topluluğundan tek bir kolloninin alınarak tekrar katı besiyerine ekilmesi, saf kültür elde etmede kullanılan en temel yöntemdir.

5.3 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Mikroorganizmalar ihtiyaç duydukları besinleri içeren kültür besiyerleri kullanılarak, laboratuvarda üretilebilirler. Saf mikroorganizma kültürlerinin başarıyla üretimi ve devam ettirilmesi aseptik tekniğin uygulanmasıyla mümkün olur.

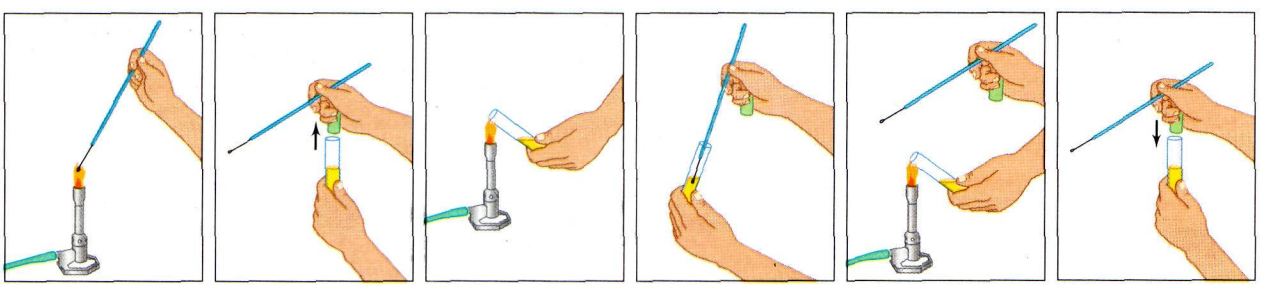
- *Steril* sözcüğünün anlamı nedir? Eğer taze hazırlanmış kültür besiyeri steril edilmezse ve oda sıcaklığında bırakılırsa ne olur?
- Laboratuvar ortamında saf kültürlerin başarıyla üretilebilmesi için aseptik tekniklere neden gerek vardır?

II ENERJİ VE ENZİMLER

Bölüm 2'de farklı yollardan enerji elde eden mikroorganizma sınıflarını – *kemoorganotroflar, kemolitotroflar* ve *fototroflar*- öğrendik (Kısım 2.4). Organizma nasıl bir hayat tarzına sahip olursa olsun, elde ettiği enerjinin bir kısmını ATP şeklinde korumak zorundadır.

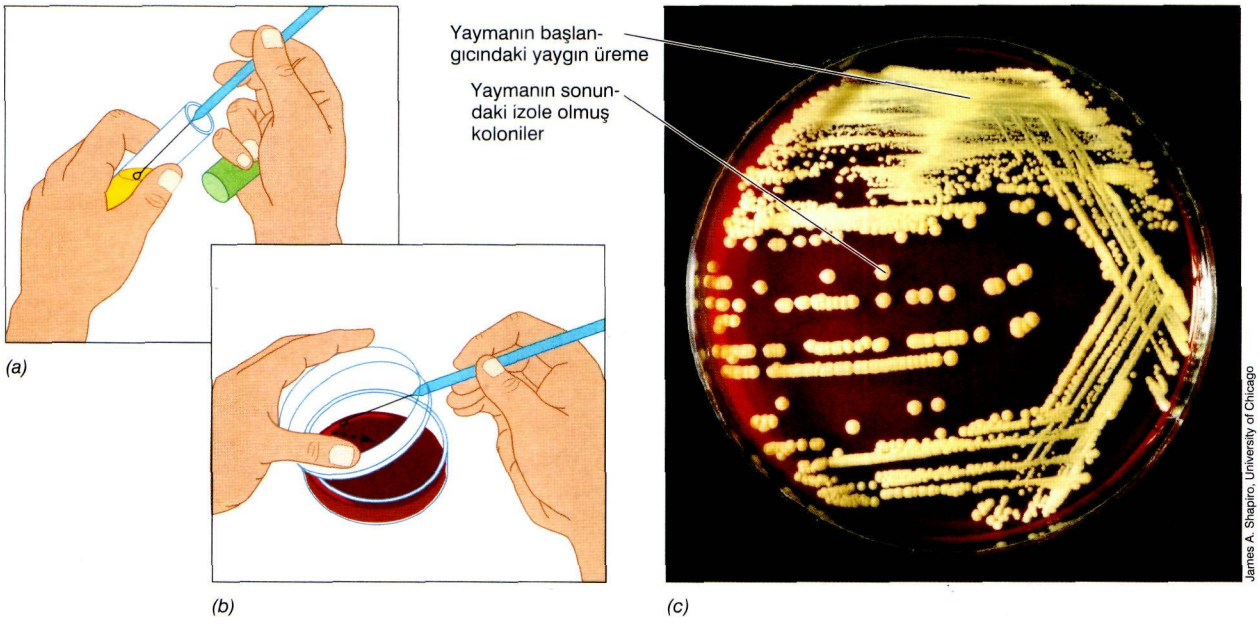
5.4 Biyoenerjetik

Enerji, iş yapabilme kapasitesi olarak tanımlanır. Mikrobiyolojide enerji, ısı enerjisi ölçüsü olan kilojul (kJ) birimi ile ifade edilir. Kimyasal tepkimeler enerjideki *değişim* ile el ele giderler. Her kimyasal tepkimede enerjinin bir kısmı ısı olarak kaybedilse de, bizim mikrobiyolojide ilgileneceğimiz enerji çeşidi **serbest enerji**dir. Serbest enerji (G), iş yapmada kullanılmak üzere açığa çıkarılmış enerji demektir.



● **Şekil 5.3 Aseptik aktarım.** (a) Öze kızarana kadar ısıtılır ve kısa bir süre havada soğutulur. (b) Tüpün kapağı açılır. (c) Tüpün ağzı ateşten geçirilir. (d) Steril öze ile örnek alınır. (e) Tüpün ağzı tekrar ateşten geçirilir ve özenin ucundaki örnek steril bir besiyerine aktarılır. (f) Tüpün kapağı kapatılır. Öze tekrar ateşten geçirilir.

Web Öğretim 5.1 Aseptic Transfer and the Streak Plate Method



● **Şekil 5.4** **Saf kültür elde etmek için kullanılan çizgi ekim yöntemi** (a) Öze sterilize edilir ve daha sonra tüpten bir öze dolusu inokulum alınır. (b) Steril katı besiyeri yüzeyine organizmayı dağıtmak için, çizgi çizilir. İlk çizgiden sonra, bunu izleyen çizgiler belirli açılarda yapılır ve her çizgiden sonra öze sterilize edilir. (c) İyi yapılmış bir çizgi ekimin inkübasyondan sonraki görüntüsü. Kanlı katı besiyerinde gelişen *Micrococcus luteus* bakterisine ait koloniler. Tek tek görülen kolonilerden saf kültür elde etmek mümkündür.

Bir tepkime sırasında serbest enerjide ortaya çıkan değişiklik $\Delta G'^0$ simgesi ile gösterilir. Bu simgedeki Δ, "^{0}" ve "üssü" işaretleri ise, enerji değerinin standart koşullar altında elde edildiğini gösterir. Standart koşullar pH'nın 7, sıcaklığın 25°C, basıncın 1 atmosfer, tüm reaktant ve ürünlerin 1M konsantrasyonda olduğu durumdur.

$$A + B \rightarrow C + D$$

tepkimesini düşünelim. Eğer bu tepkime için $\Delta G'^0$ değeri *negatif* ise, tepkime, serbest enerjinin *açığa çıkmasıyla* ilerler. Böylece hücrenin ATP şeklinde muhafaza edebileceği enerji sağlanmış olur. Enerji açığa çıkaran bu tip tepkimeler **ekzergonik**'tir. Eğer $\Delta G'^0$ değeri *pozitif* ise, tepkimenin ilerlemesi için enerjiye *gereksinim vardır*. Bu tür tepkimeler ise **endergonik**'tir. Dolayısıyla, mikrobiyal hücre için ekzergonik tepkimeler enerji *sağlarken*, endergonik tepkimeler enerji *gereksinir*.

Serbest Enerjinin Açığa Çıkması ve $\Delta G'^0$ Değerinin Hesaplanması

Tepkimenin serbest enerji kazancını hesaplamak için, reaktant ve ürünlerin serbest enerjilerinin bilinmesi gerekir. Belirli bir molekülün *oluşumu* sırasında açığa çıkan ya da ihtiyaç duyulan enerji *serbest enerji oluşumu* (G_f^0) olarak ifade edilir. Tablo 5.5'de birkaç G_f^0 örneği verilmektedir. Elemental formlardan (örneğin C, H_2, N_2) elementlerin oluşum serbest enerjisi sıfırdır. Bununla birlikte, bileşiklerin G_f^0 değeri sıfır değildir. Eğer bir bileşiğin elementlerinden oluşumu ekzergonik bir şekilde ilerliyorsa, bu bileşik için G_f^0 değeri *negatif* dir (enerji açığa çıkar). Eğer tepkime endergonik ise (enerji gereksiniyorsa) o zaman da bu bileşiğin G_f^0 değeri *pozitif* dir.

Bileşiklerin çoğu için G_f^0 değeri *negatif*tir. Bu durum, bileşiklerin bunları oluşturan elementlerden kendiliğinden (yani enerjinin açığa çıkması ile) oluşma eğiliminde oldukları gerçeğini yansıtmaktadır. Bununla birlikte, nitröz oksit (+104.2 kJ/mol, Tablo 5.5) için pozitif G_f^0 değeri, bu molekülün kendiliğinden oluşamayacağını ifade eder. Bunun yerine nitröz asit, kendiliğinden azot ve oksijene ayrışır. Mikrobiyolojinin ilgi alanında olan çeşitli bileşiklerin oluşumu için serbest enerji değerleri Ek 1'de verilmiştir.

Tablo 5.5 **Biyolojik açıdan önemli bazı bileşiklerin oluşumu için gerekli serbest enerji**

Madde	Oluşumun serbest enerjisi[a]
Su (H_2O)	–237.2
Karbon dioksit (CO_2)	–394.4
Hidrojen gazı (H_2)	0
Oksijen gazı (O_2)	0
Amonyum (NH_4)	–79.4
Nitröz oksit (N_2O)	+104.2
Asetat ($C_2H_3O_2^-$)	–369.4
Glukoz ($C_6H_{12}O_6$)	–917.3
Metan (CH_4)	–50.8
Metanol (CH_3OH)	–175.4

[a] Oluşum için gerekli serbest enerji değeri (G_f^0)*kJ/mol* cinsindendir. Oluşum için gerekli serbest enerji ile ilgili daha detaylı liste için Tablo A1.1'e bakınız.

Oluşum serbest enerjisi kullanılarak bahsi geçen tepkimede meydana gelen *standart serbest enerji değişikliğini* ($\Delta G'^0$) hesaplamak mümkündür. A + B → C + D tepkimesi için ($\Delta G'^0$) değeri, ürünlerin (C ve D) oluşum serbest enerji *toplamından* reaktantların (A ve B) oluşum serbest enerji toplamının çıkarılmasıyla hesaplanır. Dolayısıyla;

$$\Delta G'^0 = G_f^0[C + D] - G_f^0[A + B]$$

"Ürünler eksi reaktantlar" ibaresi kimyasal tepkime sırasında serbest enerjideki değişimin nasıl hesaplandığını anlatmak için kullanılan basit bir yoldur. Bununla birlikte, serbest enerji hesaplamaları yapılmadan önce ilk olarak tepkimenin kimyasal olarak dengeye ulaşması gerekmektedir. Ek 1'de herhangi bir hipotetik tepkime için serbest enerjilerin hesaplanmasında gerekli olan basamaklar detaylı olarak verilmiştir.

$\Delta G'^0$ Değerine Karşılık ΔG

Standart koşullardaki serbest enerji hesaplamaları sadece, aktüel koşullarda gerçekleşen tepkimelerin serbest enerji değişimleri hakkında tahmin yapmayı sağlar. Her ne kadar $\Delta G'^0$ hesaplamaları genelde serbest enerji değişimi için tahminler olsa da, bazı koşullar altında bu tahmini değerler gerçeğe uymamaktadır. Kitabın daha ileriki kısımlarında, ürün ve reaktantların doğadaki gerçek konsantrasyonlarının reaksiyonların biyoenerjetiğini önemli ölçüde değiştirebildiğini göreceğiz (Kısım 17.21, 19.10 ve Ek 1). Dolayısıyla, biyoenerjetik hesaplamaları için uygun olan değer $\Delta G'^0$ değil, organizmanın ürediği *gerçek koşullar altındaki* serbest enerji değişimi olarak ifade edilen $\Delta G'$dir. ΔG, tepkimedeki reaktantlar ve ürünlerin gerçek konsantrasyonlarını dikkate alan bir serbest enerji denklemidir ve aşağıdaki şekilde ifade edeilr:

$$\Delta G = \Delta G'^0 + RT \ln K$$

Bu eşitlikteki R ve T fiziksel sabiteler, K ise tepkimenin denge sabitesidir (Ek 1). $\Delta G'^0$ ile ΔG arasındaki ayrımı, metabolik çeşitliliği daha ayrıntılı olarak inceleyeceğimiz Bölüm 17'de tekrar ele alacağız. Şimdilik, $\Delta G'^0$ ifadesinin mikroorganizmalar tarafından katalize edilen kimyasal tepkimeler hakkında bize neler söyleyebileceği üzerinde odaklanacağız.

5.4 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Hücredeki kimyasal tepkimeler enerji değişiklikleri ile birlikte gerçekleşir. Bu enerji değişiklikleri kilojul cinsinden ifade edilir. Bir kimyasal tepkimede ya serbest enerji açığa çıkar (ekzergonik), ya da serbest enerji harcanır (endergonik).

- Serbest enerji nedir?
- *Katabolik* tepkimeler genelde ekzergonik mi, yoksa endergonik midir?
- Tablo 5.5'deki verileri kullanarak, $CH_4 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow CH_3OH$ tepkimesi için $\Delta G'^0$ değerini hesaplayınız. $\Delta G'^0$ ile ΔG arasında ne fark vardır?

5.5 Kataliz ve Enzimler

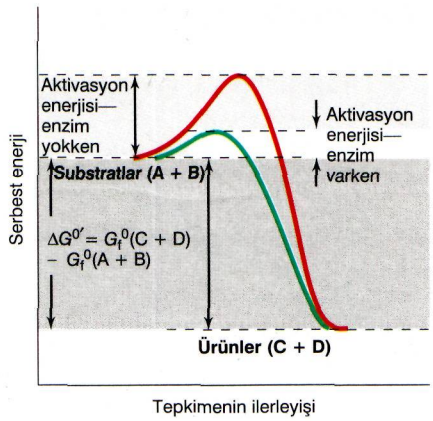
Serbest enerji hesaplaması sadece, belirli bir tepkimede enerjinin açığa çıktığını ya da enerjiye gereksinim olduğunu gösterir. Bu hesaplama ile bulunan değer tepkimenin *hızı* ile ilgili hiç bir şey söylemez. Oksijen gazı ve hidrojenden su oluşumunu göz önüne alalım: $H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$, $\Delta G'^0 = -237$ kJ. Enerjetik açıdan bu tepkime oldukça tercih edilir olmakla birlikte, bir şişe içerisinde O_2 ve H_2'yi karıştırarak yıllarca beklesek, ölçülebilir miktarda su oluşmadığını görürüz; çünkü su oluşturmak için oksijen ve hidrojen atomlarının su oluşturmak üzere yeniden düzenlenmesi için öncelikle bu reaktantların kimyasal bağlarının kırılmasını gerektirmektedir. Bağların kırılması için enerjiye ihtiyaç vardır. Bu enerji **aktivasyon enerjisi** olarak adlandırılır.

Aktivasyon enerjisi, kimyasal tepkimedeki tüm molekülleri reaktif duruma getirmek için gerekli olan enerjidir. Net olarak serbest enerji açığa çıkması ile ilerleyen bir tepkime için (yani ekzergonik tepkime), bu durum Şekil 5.5●'de şematize edilmiştir. Katalizör yokluğunda aktivasyon enerji engelinin aşılması *daha güç olduğu halde, uygun bir katalizörün* varlığında bu engelin aşılması çok daha kolaydır (Şekil 5.5).

Enzimler

Aktivasyon enerjisi kavramı bizleri kataliz ve enzim kavramlarına yönlendirir. Biyokimyasal açıdan **katalizör** tepkimenin aktivasyon enerjisini *düşüren*, dolayısıyla tepkime hızını *artıran* bir maddedir. Katalizörler tepkimeleri kolaylaştırır, ancak tepkime sırasında tüketilmez ya da değişikliğe uğratılmazlar. Katalizörlerin bir başka özelliği, tepkimelerin enerjetiğini ya da denge durumunu etkilemeksizin ilerleme *hızını* etkilemeleridir.

Canlı organizmalardaki tepkimelerin birçoğu katalizör olmaksızın gerçekleşmez. Biyolojik katali-



● **Şekil 5.5 Hipotetik bir ekzergonik tepkimenin ilerleyişi: A + B → C + D, ve aktivasyon enerji kavramı.** Enerji açığa çıkışı ile gerçekleşen kimyasal tepkimeler bile kendiliğinden cereyan edemeyebilir. Aktivasyon sağlandıktan sonra, tepkime kendiliğinden ilerler. Enzim gibi katalizörler, tepkime için gerekli olan aktivasyon enerjisini düşürürler.

zörlere **enzim** adı verilir. Enzimler belirli tepkimeler için özgül olan proteinler (ya da az sayıdaki bazı durumlarda RNAlar) dir. Yani, her bir enzim *tek tip* kimyasal tepkimeyi katalizler. Bazı enzimler ise birbirine benzeyen tepkime grubunu katalizler. Bu özgüllük enzim molekülünün özgül üç-boyutlu yapısından kaynaklanır. Enzimle katalizlenen bir tepkimede enzim ile **substrat** (S) geçici olarak bir araya gelir ve **enzim-substrat kompleksi** oluşur. Reaksiyon sonucunda oluşan **ürün** (P) enzimden ayrılır ve enzim (E) başlangıçtaki durumuna geri döner:

$$E + S \leftrightarrow E — S \leftrightarrow E + P$$

Enzim genelde substrat(lar)dan çok daha büyüktür ve enzim ile substrat(lar) birlikteliği, hidrojen bağları, van der Waals kuvvetleri ve hidrofobik etkileşimler gibi zayıf bağlara (Kısım 3.1) ihtiyaç duymaktadır. Enzim üzerinde substratın bağlandığı kısım enzimin **aktif bölgesi** olarak isimlendirilmektedir.

Enzim Katalizi

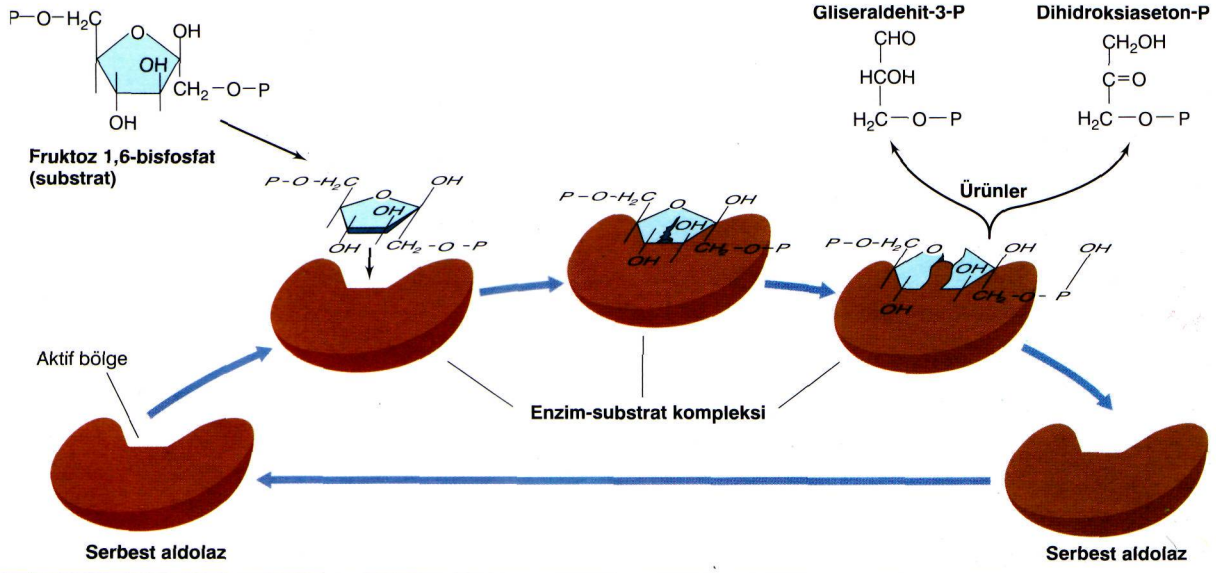
Enzimlerin katalitik gücü oldukça etkileyicidir. Enzimler kimyasal tepkimelerin hızını kendiliğinden gerçekleşen tepkimelere göre 10^8-10^{20} misli artırırlar. Özgül bir tepkimeyi katalizlemek için enzim iki şey yapmak zorundadır: (1) doğru substrata bağlanmak, ve (2) enzimin aktif bölgesinde katalitik olarak aktif olan amino asitlere göre substratın pozisyonunu belirlemek. Enzim-substrat kompleksi (Şekil 5.6●) reaktif grupları karşı karşıya getirir ve substrat(lar) daki özgül bağlara baskı uygular. Enzim-substrat kompleksi oluşumunun net sonucu, tepkimenin substrat(lar)dan ürün(ler)e doğru ilerlemesini sağlamak için gerekli olan aktivasyon enerjisinin azalmasıdır (Şekil 5.5). Bu basamaklar Şekil 5.6'da glikolizdeki ahahtar enzimlerden biri olan *fruktoz* bisfosfat *aldolaz* için şematik olarak özetlenmiştir (Bkz. Kısım 5.10).

Şekil 5.5'de görülen tepkimenin ekzergonik olduğuna dikkat ediniz. Bu tepkimede substratların serbest enerjisi ürünlerin serbest enerjisinden daha *büyüktür*. Yani, ürün oluşumu serbest enerjinin *açığa çıkması* ile ilerlemektedir. Enzimler enerji gerektiren tepkimeleri de katalizlemekte ve enerji açısından fakir substratları enerji açısından zengin ürünlere dönüştürmektedirler. Ancak bu gibi durumlarda, sadece aktivasyon enerji bariyerinin üstesinden gelmek yeterli olamamakta, substratların enerji düzeyini ürünlerin enerji düzeyine çıkarmaya yetecek miktarda serbest enerjinin tepkimeye eklenmesi de gerekmektedir. Bunun başarılması, enerji-gerektiren tepkimeler ile enerji-üreten tepkimelerin (örneğin ATP hidrolizi) *eşleştirilmesi* ile mümkün olur (Bkz. Şekil 5.12).

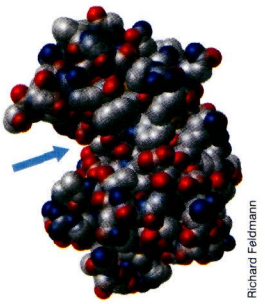
Teorik olarak bütün enzimler, her iki yöndeki tepkimeyi de katalizlerler. Ancak pratikte, çok ekzergonik ya da çok endergonik olan enzimatik tepkimeler tek yönlüdür. Hücre metabolizması sırasında eğer belirli bir ekzergonik ya da endergonik tepkimenin ters yönde gerçekleşmesi gerekiyorsa, bu tepkime genelde farklı bir enzim tarafından katalizlenir.

Enzimlerin Yapısı ve İsimlendirilmesi

Enzimlerin çoğu protein yapısındadır (Kısım 3.6-3.8). Her protein özgül, üç boyutlu bir şekle sahiptir. Dolayısıyla, her proteinin kendine özgü bağlanma ve fiziksel özellikleri vardır. Bir enzimin yapısı bilgisayarda-oluşturulmuş uzay modeli ile temsil edilebilir (Şekil 5.7●). Peptidoglikanı kıran *lizozim*



● **Şekil 5.6 Fruktoz bisfosfat aldolaz enziminin katalitik döngüsü.** Bu enzim glikoliz sırasında fruktoz 1,6-bisfosfat → gliseraldehit 3-fosfat + dihidroksiaseton fosfat tepkimesini katalizler (Bkz. Şekil 5.14). Enzim-substrat kompleksinin oluşumu sırasında, fruktoz 1,6-bisfosfat molekülünün bağlanmasını takiben enzimin konformasyonu değişir ve substratın belirli bağları üzerine baskı uygulanır. Bu baskı substratın iki ürün oluşturmak üzere kırılmasına yol açar.



● **Şekil 5.7 Lizozim enziminin bilgisayarda oluşturulmuş uzay modeli.** Substrat (peptidoglikan) bağlama bölgesi (aktif bölge), modelin sol tarafında okla gösterilen geniş girintidir.

enzimi örneğinde (Kısım 4.8), oluk şeklindeki girinti substratın bağlandığı bölgedir (aktif bölge).

Birçok enzim, kataliz işlemine katılan ancak protein yapısında olmayan küçük moleküller içerir. Enzim ile birlikte iş gören bu küçük moleküller enzim ile ortaklık kurma şekillerine göre iki sınıfa ayrılırlar: *prostetik gruplar* ve *koenzimler*.

Prostetik gruplar enzimlerine kovalent bağlarla ve daimi olarak sıkıca bağlanmışlardır. Sitokromlarda bulunan hem grubu (Bkz. Kısım 5.11) prostetik gruplara ait bir örnektir. **Koenzimler** ise enzimlerine gevşek olarak bağlanır ve tek bir koenzim molekülü birkaç farklı enzim ile ilişkiye girebilir. Koenzimlerin çoğu vitaminlerin türevleridir. Örneğin NAD^+/NADH bir vitamin olan niasin'den türemiştir (Tablo 5.3).

Enzimler bağlandıkları substratın ya da katalizledikleri kimyasal tepkimenin adının sonuna *–az* eki getirilerek isimlendirilirler. Dolayısıyla, selüloza atak yapan enzim selül*az*, glukozun oksidasyonunu katalizleyen enzim glukoz oksid*az* ve ribonükleik asit molekülünü parçalayan enzim ribonükle*az*'dır. Biyokimyacılar tarafından daha formel bir adlandırma sistemi kullanılır. Bu sistemde enzimin katalizlediği tepkime sınıfı dikkate alınarak, her enzime özgül bir numara verilir. Bu kitapta "*az*" ile biten isimler kullanılmakta olup, özgül enzim numaraları verilmemiştir.

5.5 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Kimyasal tepkimeye girecek olan reaktantlar tepkime gerçekleşmeden önce aktive edilmek durumundadırlar. Bu iş için katalizör gerekir. Enzimler biyokimyasal tepkimelerin hızını artıran katalitik proteinlerdir. Enzimler katalizledikleri tepkimeler için özgüldürler. Bu özgüllük proteinde yer alan polipeptid(ler)in üç boyutlu yapısında saklıdır.

- *Katalizörün* işlevi nedir?
- Enzimler hangi makromolekül *sınıfına* dahildir?
- Substrat enzim üzerinde hangi bölgeye bağlanır?
- *Aktivasyon enerjisi* nedir?

III OKSİDASYON-REDÜKSİYON VE ENERJİ AÇISINDAN ZENGİN BİLEŞİKLER

Hücrelerde enerjinin korunması **oksidasyon-redüksiyon (redoks)** tepkimelerini gerektirmektedir. Bu tepkimelerde açığa çıkan enerji, ATP gibi enerji açısından zengin bileşiklerin üretimiyle korunmaktadır. Bu kısımda önce, oksidasyon-redüksiyon tepkimelerini ve hücre sitoplazmasında ve sitoplazmik zarda yer alan başlıca elektron taşıyıcılarını gözden geçireceğiz. Daha sonra, oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinde açığa çıkan enerjiyi koruyan bileşiklerin niteliği üzerinde duracağız.

5.6 Oksidasyon-Redüksiyon

Oksidasyonun kimyasal tanımı, bir bileşikten elektron (veya elektronların) *uzaklaştırılmasıdır*. Redüksiyon ise, bir bileşiğe elektron (veya elektronlar) *eklenmesi* olarak tanımlanır. Biyokimyadaki oksidasyon ve redüksiyonlar sadece elektron aktarımını değil, elektron (e^-) ve protonların (H^+) birlikte aktarımını içermektedir. Dolayısıyla, sadece elektron içeren oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri ile elektronlarla birlikte protonları içeren oksidasyon-redüksiyon tepkimelerini birbirinden ayırt etmek gerekir. Ancak şimdi bu ayrım üzerinde durmayacağız (Bkz. Kısım 5.11 ve 5.12).

Elektron Verici ve Alıcıları

Redoks tepkimeleri, elektron vericisinden açığa çıkan elektronların elektron alıcısı tarafından alındığı durumlarda gerçekleşir. Örneğin, elektron vericisi olan hidrojen gazı (H_2) elektron ve proton vererek oksitlenir:

$$H_2 \rightarrow 2\,e^- + 2\,H^+$$

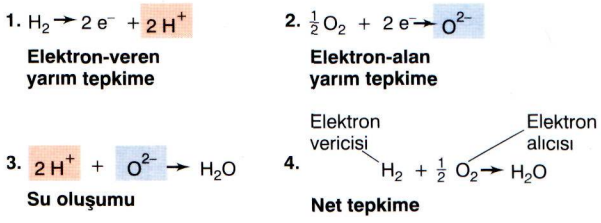
Ancak elektronlar çözelti içinde tek başına bulunmaz ve ya atomların ya da moleküllerin bir parçası olmak durumundadırlar. Dolayısıyla, yukarıdaki denklem kimyasal bilgi sağlamakla birlikte, kendi başına bağımsız bir tepkimeyi temsil etmez. Bu bir *yarım tepkime*dir. Bu terim ikinci bir yarım tepkimeye gereksinim olduğunu ifade eder. Bunun nedeni, herhangi bir *oksidasyon*un gerçekleşebilmesi için, bir *redüksiyon* gerekmesidir. Örneğin, H_2'nin oksidasyonu, pek çok farklı bileşiğin (O_2 de dahil olmak üzere) redüklendiği yarım tepkimeler ile birlikte cereyan edebilir:

$$\tfrac{1}{2}O_2 + 2\,e^- + 2H^+ \rightarrow H_2O$$

Bir redüksiyon olan bu yarım tepkime, yukarıda verilen H_2'nin oksidasyonu ile eşleştiğinde, aşağıdaki net tepkime ortaya çıkar:

$$H_2 + \tfrac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$$

Bu tip tepkimelerde *oksitlenen* bileşik (bu örnekte H_2) **elektron vericisi**, *redüklenen* bileşik (bu örnekte O_2) ise **elektron alıcısı** olarak adlandırılır (Şekil 5.8●). Biyolojik oksidasyon ve redüksiyonları anlamanın anahtarı doğru yarım tepkimeleri yazmaktır. Bir redoks tepkimesinde her zaman elektron



● **Şekil 5.8 Oksidasyon-redüksiyon tepkimesine örnek.** Elektron vericisi olan H_2 ve elektron alıcısı olan O_2'den H_2O molekülünün oluşumu.

veren bir yarım tepkime, bir de elektron *alan* yarım tepkime bulunmak zorundadır.

Redüksiyon Potansiyelleri

Farklı bileşikler oksitlenme ya da redüklenme eğilimleri bakımından değişiklik gösterir. Bu eğilim yarım tepkimenin **redüksiyon potansiyeli** (E_0', standart koşullar) olarak ifade edilir. Bu potansiyel, standart bileşik olan H_2 referans alınarak, elektriksel olarak volt (V) cinsinden ölçülür. Redüksiyon potansiyellerini *redüksiyon* yarım tepkimeleri için ifade etme konusunda fikir birliğine varılmıştır. Eğer tepkimede proton aktarımı söz konusu ise, bu durumda redüksiyon potansiyeli bir dereceye kadar hidrojen iyon konsantrasyonundan (pH) etkilenmektedir. Bununla beraber, biyolojide kullanılan redüksiyon potansiyelleri, pH'nın 7 olduğu koşullardaki değerlerdir. Bunun nedeni, hücre sitoplazmasının nötral ya da nötrale yakın pH'da olmasıdır. Bu kabuller göz önüne alınarak, pH 7'deki,

$$\tfrac{1}{2}O_2 + 2H^+ + 2e^- \rightarrow H_2O$$

için E_0' değeri +0.816 V iken,

$$2\,H^+ + 2e^- \rightarrow H_2$$

için E_0' değeri –0.421 V'dur. Metnin ilerleyen kısımlarında bu E_0' değerlerinin O_2'nin mükemmel bir elektron alıcısı, H_2'nin ise mükemmel bir elektron vericisi olduğu anlamına geldiğini göreceğiz (Şekil 5.8).

Oksidasyon-Redüksiyon Eşleşmesi ve Bütünleşik Redoks Tepkimeleri

Pek çok molekül, tepkimeye girdikleri bileşiklere bağlı olarak ya elektron vericisi ya da elektron alıcısı olabilir. Yarım tepkimelerdeki okun her iki tarafındaki kimyasal bileşenler *redoks çiftini* temsil eder. Örneğin, $2\,H^+/H_2$ ya da $\frac{1}{2}O_2/H_2O$ gibi. Kural olarak bir redoks çifti yazılırken, *okside* eş her zaman için sol tarafa yerleştirilir.

Her iki yarım tepkime bir araya getirilerek bütünleşik oksidasyon-redüksiyon tepkimesi oluşturulurken, E_0' değeri daha fazla negatif olan redoks çiftinin redükte bileşiği, E_0' değeri daha pozitif olan redoks çiftinin okside bileşiğine elektron *verir*. Dolayısıyla, $2\,H^+/H_2$ (E_0' – 0.42V) çiftindeki H_2'nin elektron verme eğilimi, protonların elektron alma eğilimlerinden büyüktür. Diğer taraftan, $\frac{1}{2}O_2/H_2O$ (E_0' + 0.82V) çiftindeki H_2O oldukça zayıf elektron verme eğiliminde iken, O_2'nin elektronları kabul etme eğilimi oldukça yüksektir. O halde, H_2 ile O_2 arasındaki tepkimede, H_2 elektron vererek oksitlenir, O_2 ise elektron alarak redüklenir (Şekil 5.8).

Kural olarak, tüm yarım tepkimeler *redüksiyonlar* olarak yazılır. Ancak, gerçek bir redoks tepkimesinde, iki yarım tepkimeden bir tanesi oksidasyon tepkimesi olacağı için *zıt* yönde yazılacaktır. Bu nedenle, Şekil 5.8'de H_2'nin $2H^+ + 2e^-$'ye oksidasyon tepkimesi, redüksiyon olarak yazılan formel yarım tepkime tersine çevrilerek verilmiştir.

Elektron Kulesi

Biyolojik sistemlerdeki elektron aktarım tepkimelerini incelemenin ve bunların biyoenerjetik açıdan önemlerini kavramanın en uygun yolu dikey bir kule hayal etmektir (Şekil 5.9●). Böyle bir kule, doğadaki redoks çiftleri için mümkün olan redüksiyon potansiyeli sıralamasını ifade eder. Bu sıralamada en negatif E_o' değeri kulenin en tepesinde yer alırken, en pozitif E_o' değeri kulenin en altında yer alır. Kulenin tepesinde yer alan redoks çiftindeki *redükte* bileşiğin elektron verme eğilimi oldukça yüksek iken, kulenin altında yer alan redoks çiftindeki *okside* bileşiğin elektron alma eğilimi oldukça yüksektir.

Elektronlar, kulenin en üstündeki elektron vericisinden düştükçe, çeşitli seviyelerdeki alıcılar tarafından "yakalanabilir". Kuledeki iki bileşik arasındaki redüksiyon potansiyeli farkı $\Delta E_o'$ olarak ifade edilir. Elektronlar alıcı tarafından yakalanmadan önce vericiden ne kadar uzağa düşerse, açığa çıkan enerji miktarı o kadar artar. Yani, $\Delta E_o'$ değeri $\Delta G^{0\prime}$ değeri ile *orantılıdır* (Şekil 5.9). Kulenin en altında yer alan oksijen (O_2) doğada yaygın olarak bulunan en uygun elektron alıcısıdır. Kulenin orta kısımlarındaki redoks çiftleri, hangi redoks çiftleri ile tepkimeye girdiklerine bağlı olarak, ya elektron vericisi ya da alıcısı olabilirler. Örneğin, $2H^+/H_2$ çifti (–0.42V) aşağıda gösterildiği gibi fumarat/süksinat çifti ile tepkimeye girebilir:

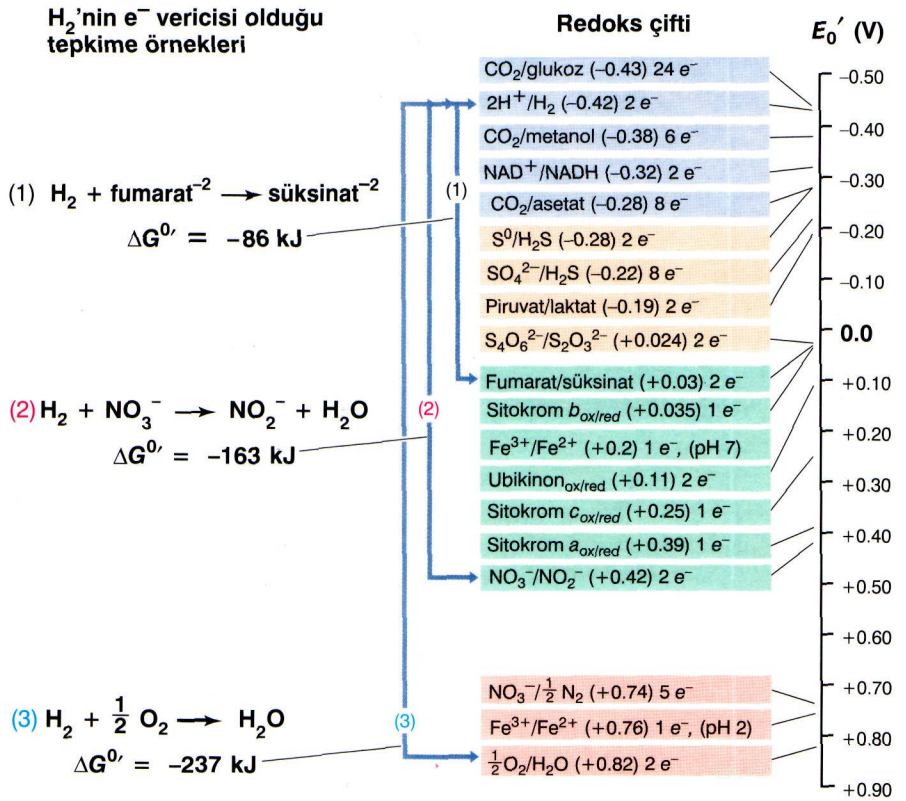
$$H_2 + \text{fumarat}^{2-} \rightarrow \text{süksinat}^{2-}$$

Bunun aksine, süksinatın fumarat molekülüne oksidasyonu, NO_3^- veya $\frac{1}{2}O_2$'nin redüksiyonu ile eşleşebilir:

$$\text{Süksinat}^{-2} + NO_3^- \rightarrow \text{fumarat}^{-2} + NO_2^- + H_2O$$

$$\text{Süksinat}^{-2} + \tfrac{1}{2}O_2^- \rightarrow \text{fumarat}^{-2} + H_2O$$

Bu yüzden, H_2 varlığında ve oksijensiz koşullarda, fumarat elektron alıcısı olabilir (süksinat üreterek). Diğer koşullar altında (örneğin, NO_3^- varken oksijen yoksa, ya da oksijenli koşullarda) süksinat elektron vericisi olabilir (fumarat üreterek). Gerçekten de, burada gösterilen fumarat ve süksinatın katıldığı dönüşümlerin hepsi çeşitli mikroorganizmalar tarafından (*Escherichia coli* dahil) belirli besin ve çevre koşullarında gerçekleştirilmektedir.



● **Şekil 5.9** **Elektron kulesi.** Redoks çiftleri en üstteki en güçlü redüktörden (redükleyici ajan) (negatif redüksiyon potansiyeli) en altta yer alan en güçlü oksidana (pozitif redüksiyon potansiyeli) doğru yerleştirilmiştir. Kulenin tepesinden elektronlar bağışlandıkça, çeşitli seviyelerdeki alıcılar tarafından "yakalanabilirler". Elektronlar yakalanmadan önce ne kadar uzağa düşerlerse, elektron vericisi ve elektron alıcısı arasındaki redüksiyon potansiyel farkı o kadar büyük demektir ve daha fazla enerji açığa çıkar. Buna bir örnek olarak, elektron vericisi olan H_2'nin fumarat, nitrat ve oksijen gibi üç farklı elektron alıcısından herhangi biri ile tepkimeye girdiğinde açığa çıkan enerji farkları sol tarafta gösterilmiştir.

Elektron Vericisi ↔ Enerji Kaynağı

Elektron vericileri çoğu kez **enerji kaynakları** olarak isimlendirilir; çünkü bunlar oksitlendiğinde enerji açığa çıkar. Doğadaki çok çeşitli organik ve inorganik bileşikler potansiyel elektron vericileri olarak davranırlar (Bölüm 17 ve 19). Bununla birlikte, elektron vericisinin *kendisi* enerji içermez. Enerji açığa çıkaran süreç, elektron vericisinin oksitlendiği *kimyasal tepkime*dir. Dolayısıyla uygun bir elektron alıcısının varlığı, elektron vericisi kadar önemlidir. Ayrıca, redoks tepkimelerinde açığa çıkan enerji miktarı *hem* elektron vericisi, *hem de* elektron alıcısının niteliğine bağlıdır. İki yarım tepkimenin redüksiyon potansiyelleri arasındaki fark ne kadar fazlaysa, tepkimeye girdiklerinde o kadar fazla enerji açığa çıkar (Şekil 5.9) (aynı zamanda Ek 1'e bakınız).

5.6 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri elektron vericisinden elektron alıcısına elektron aktarımı ile gerçekleşir. Bir bileşiğin elektron alma ya da verme eğilimi onun redüksiyon potansiyeli, E_0' ile kantitatif olarak ifade edilir.

- $H_2 + \frac{1}{2}O_2 \rightarrow H_2O$ tepkimesinde hangisi elektron *vericisi*, hangisi elektron *alıcısı*dır?
- $2H^+/H_2$ çiftinin E_0' değeri nedir? Protonlar iyi birer elektron alıcısı mıdır? Neden?
- Fumarat ile kıyaslandığında, nitrat (NO_3^-) neden daha iyi bir elektron alıcısıdır?

5.7 Redoks Elektron Taşıyıcısı Olarak NAD

Redoks tepkimelerinde elektronların aktarımı için tipik olarak *taşıyıcı* olarak isimlendirilen bir ya da daha fazla aracıya gerek vardır. Bu tür taşıyıcılar kullanıldığı zaman, başlangıçtaki vericiyi **birincil elektron vericisi**, son alıcıyı ise **son elektron alıcısı** olarak ifade ederiz. Tüm tepkime dizisindeki net enerji değişikliği, birincil verici ile son alıcı arasındaki redüksiyon potansiyeli *farkı* tarafından belirlenmektedir.

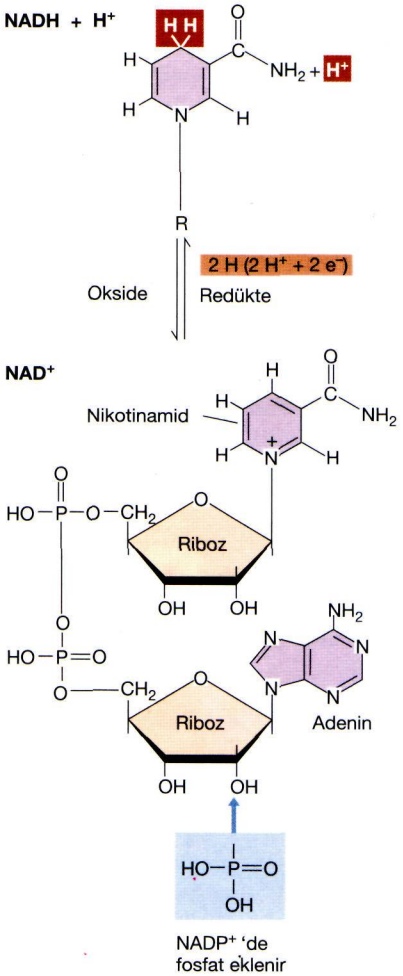
Elektron taşıyıcıları iki sınıfa ayrılır: *Serbestçe difüze olabilenler* (koenzimler) ve sitoplazmik zardaki enzimlere sıkıca tutunmuş olanlar (prostetik gruplar). Sabit taşıyıcılar zara-bağlı elektron taşıma tep-

kimelerinde görev yaparlar. Bu konu Kısım 5.11'de anlatılmıştır. Difüze olabilen taşıyıcılar, nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+) ve NAD-fosfat ($NADP^+$) koenzimleridir (Şekil 5.10●). NAD^+ ve $NADP^+$ hem *elektron*, hem de H^+ *taşıyıcılarıdır* ve bir seferde $2e^-$ ve $2H^+$ aktarırlar.

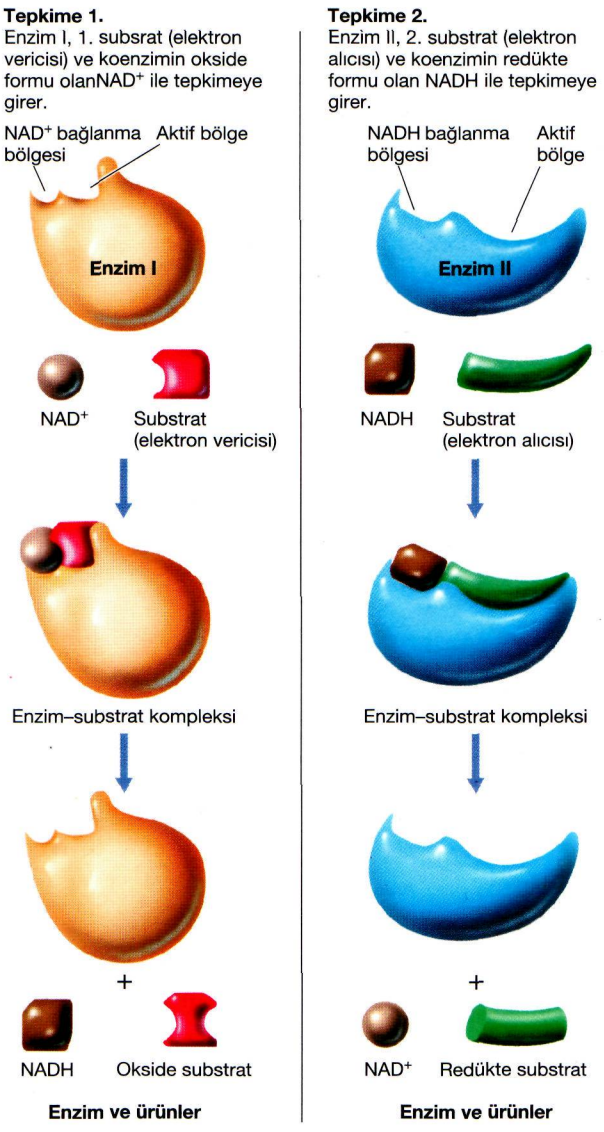
$NAD^+/NADH$ (veya $NADP^+/NADPH$) çiftinin redüksiyon potansiyeli –0.32 V'dur. Dolayısıyla, elektron kulesinin oldukça üst kısmında yer alırlar. Yani, NADH (veya NADPH) iyi birer elektron *vericisi*'dir. Bununla beraber, her ne kadar NAD^+ ve $NADP^+$ çiftleri aynı redüksiyon potansiyellerine sahip olsalar da, hücrede genelde farklı kapasitelerde işlev görürler. $NAD^+/NADH$ enerji-üreten (katabolik) tepkimelerde görev alırken, $NADP^+/NADPH$ esas olarak biyosentetik (anabolik) tepkimelerde gereklidir.

NAD/NADH Döngüsü

Koenzimler hücrede gerçekleşme olasılığı olan redoks tepkimelerinin çeşitliliğini artırırlar. Bunu yapabilmek için, kimyasal olarak farklı moleküllerin, birincil elektron vericisi ve son elektron alıcısı olarak birbirleri ile etkileşmelerine olanak verirler. Bu arada koenzim araürün olarak davranır. Örneğin, bir molekülden uzaklaştırılan elektronlar NAD^+'yi NADH'ye indirgerken, NADH elektronları ikinci bir moleküle vererek, tekrar NAD^+ formuna geri döner.



● **Şekil 5.10 Oksidasyon-redüksiyon koenzimi olan nikotinamid adenin dinükleotit (NAD^+)'nin yapısı.** $NADP^+$ yapısında ok ile gösterilen kısımda bir fosfat grubu bulunur. Hem NAD^+ hem de $NADP^+$ gösterildiği gibi oksidasyon-redüksiyona uğrar, serbestçe difüze olur ve $2e^- + 2H^+$ taşırlar. Diyagramın üst kısmındaki "R", NAD^+nin adenin dinükleotit kısmı olup, molekülün tamamı diyagramın alt kısmında gösterilmiştir.



● **Şekil 5.11 Oksidasyon-redüksiyon tepkimesinin şematik örnek.** Bu tepkime nikotinamid adenin dinükleotit koenziminin okside ve redüklte formlarını (NAD^+ ve NADH) içermektedir.

Şekil 5.11●, iki aşamalı bu tip bir tepkimede NAD^+/NADH'nin işleyişini gösteren bir diyagramdır. Bu işlem sırasında, NAD^+ ve NADH basitçe tepkimenin gerçekleşmesini mümkün kılan aracılar olarak hizmet eder, ancak işlem sırasında harcanmazlar. Dolayısıyla hücreler, birincil elektron vericisi ya da son elektron alıcısına fazla miktarda gereksinim duyduğu halde, NAD^+ /NADH koenzimlerini çok küçük miktarlarda gereksinir. Burada gerekli olan tek şey, hücredeki redoks enzimlerine yardım etmeye yetecek miktarda koenzim bulunmasıdır.

5.7 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Bir hücrede vericiden alıcıya elektron aktarımı bir ya da daha fazla elektron taşıyıcısı tarafından başarılır. Bazı elektron taşıyıcıları zara bağlı olduğu halde, NAD^+/NADH gibi diğerleri rahatlıkla difüze olabilir ve elektronları hücrede bir yerden başka bir yere aktarabilir.

◆ NADH, H_2'den daha iyi bir elektron vericisi midir? Buna karar vermek için Şekil 5.9'daki verileri kullanabilirsiniz.

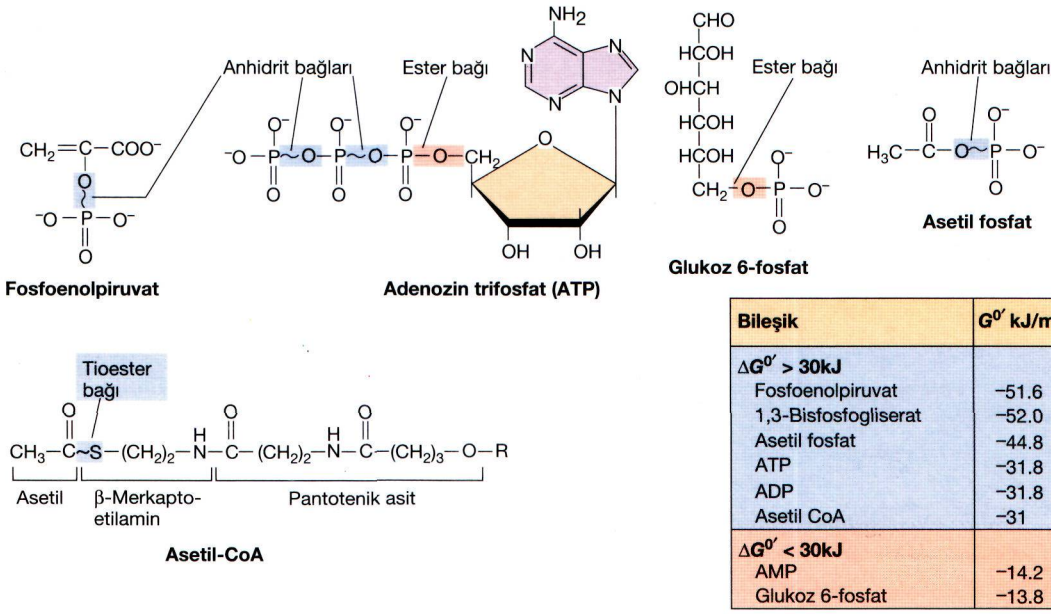
5.8 Enerji Açısından Zengin Bileşikler ve Enerjinin Depolanması

Redoks tepkimelerinde açığa çıkan enerji, enerji-gerektiren işlevleri gerçekleştirmek için kullanılmak üzere hücre tarafından konserve edilmek zorundadır. Canlı organizmalardaki redoks tepkimelerinde açığa çıkan kimyasal enerji, fosforlanmış bileşikler ve özellikle de ATP halinde korunur. Bu tür maddelere **enerji-açısından zengin** maddeler denir; çünkü fosfat bağının hidrolizi ile açığa çıkan potansiyel enerji, hücredeki normal bir kovalent bağın hidrolizi ile açığa çıkan potansiyel enerjiden çok daha fazladır.

Fosforlanmış bileşiklerdeki fosfat grupları, oksijen atomlarının aracılık ettiği *ester* ya da *anhidrit* bağları ile bağlanırlar (Şekil 5.12●). Ancak, bütün fosfat bağları enerji açısından zengin değildir. Fosfat bağlarının enerjisi, fosfat hidroliz olduğunda açığa çıkan enerji olarak ifade edilir. Şekil 5.12'de görüldüğü gibi, glukoz 6-fosfat molekülündeki fosfat *ester* bağının hidrolizinin $\Delta G'^0$ değeri sadece –13.8 kJ/mol'dür. Buna karşılık, fosfoenolpiruvat molekülündeki fosfat *anhidrit* bağının hirolizinin $\Delta G'^0$ değeri ise –51.6 kJ/mol yani glukoz 6-fosfatın değerinden yaklaşık dört kat fazladır (Tablo 3.1). Dolayısıyla, bir fosfoanhidrit olan fosfoenolpiruvat enerji açısından zengin bir bileşik iken, bir fosfat esteri olan glukoz 6-fosfat enerji açısından zengin değildir. Teorik olarak bu iki bileşik de enerji üretmek için hidroliz olabilse de, hücreler tipik olarak $\Delta G'^0$ değeri *30 kJ/mol'den daha büyük* olan bileşikleri enerji "kaynağı" olarak kullanırlar (Şekil 5.12 ve Bkz. Tablo 17.6)

Adenozin Trifosfat (ATP)

Hücrelerde enerji-açısından zengin en önemli fosfat bileşiği **adenozin trifosfat (ATP)** dır. ATP, adenozin ribonükleozitine bağlanmış üç fosfat molekülü içermektedir (Şekil 5.12). ATP ekzergonik tepkimeler sırasında oluşturulan ve belirli endergonik tepkimelerde tüketilen en önemli hücresel enerji kaynağıdır. ATP molekülünün yapısı incelendiğinde, (Şekil 5.12) fosfat bağlarından ikisinin fosfoanhidrit



Bileşik	$G^{0'}$ kJ/mol
$\Delta G^{0'}$ > 30kJ	
Fosfoenolpiruvat	−51.6
1,3-Bisfosfogliserat	−52.0
Asetil fosfat	−44.8
ATP	−31.8
ADP	−31.8
Asetil CoA	−31
$\Delta G^{0'}$ < 30kJ	
AMP	−14.2
Glukoz 6-fosfat	−13.8

● **Şekil 5.12 Hücrelerdeki enerji dönüşümlerinde önemli olan bazı bileşikler** Tablo, önemli bazı fosfat esterleri ve anhidritlerin hidrolizleri için serbest enerji değerlerini göstermektedir. Bağların pozisyonunu göstermek için dört bileşiğin yapısı verilmiştir. Aynı zamanda asetil-CoA koenziminin yapısı da gösterilmektedir. C ve S arasındaki tioester bağının hidrolizi için serbest enerji değişikliği >30 kJ'dür . Asetil-CoA'nın "R" grubu 3' fosfo ADP grubudur.

olduğu görülebilir. Dolayısıyla bunların hidrolizi için serbest enerji 30 kJ'dan fazladır. Şöyle ki: ATP → ADP + P_i ve ADP → AMP + P_i tepkimelerinin her biri yaklaşık olarak 32 kJ/mol enerji açığa çıkarmaktadır (Şekil 5.12).

Her ne kadar ATP hidrolizinden açığa çıkan enerji yaklaşık –32 kJ olsa da, ATP *sentezi* için enerji gereksinimlerinin tam olarak tanımlanması için buraya bir uyarı eklenmesi gerekmektedir. Aktif olarak büyümekte olan bir hücrede, ATP:ADP oranı yüksek tutulur ve bu oran takriben 1000'dir. Bu durum ATP sentezi için enerji gereksinimlerini önemli ölçüde etkiler. Aktif bir şekilde büyüyen hücrede bir molekül ATP sentezi için aktüel enerji gereksinimi (yani ΔG, bakınız Kısım 5.4) –55 ile –60 kJ arasındadır. Ancak biz burada biyoenerjetiğin temel prensiplerini öğrenme amacıyla "standart koşullar"ı göz önünde bulunduracak, ve ATP'nin sentezi veya hidrolizi için gerekli olan enerjiyi yani $\Delta G'^0$ değeri olan 32 kJ/mol'ü kullanacağız.

Koenzim A

Hücreler enerji açısından zengin *fosfat* bileşiklerine ek olarak, ekzergonik tepkimelerde açığa çıkan enerjiyi koruyabilen diğer bileşikleri de üretirler. Bunlar koenzim A türevleridir. (örneğin asetil-CoA; Bkz. Şekil 5.12'deki yapı). **Koenzim A** türevleri tioester bağları içerir (Şekil 5.12 ve Tablo 3.1). Bunların hidrolizi, enerji açısından zengin fosfat bağının sentezini gerçekleştirmeye yetecek miktarda serbest enerji sağlar. Örneğin:

$$\text{Asetil-S-CoA} + H_2O + \text{ADP} + P_i \rightarrow \text{asetat}^- + \text{HS-CoA} + \text{ATP} + H^+$$

tepkimesinde, koenzimA molekülünün hidrolizinden açığa çıkan enerji ATP sentezi ile korunur. KoenzimA türevleri (asetil-CoA bunlardan sadece biridir) *anaerobik* mikroorganizmaların (özellikle enerji metabolizmaları fermentasyonu gerekli kılanların), enerjetiğinde önemlidir (Kısım 5.10, 17.19 ve 17.20). Bu maddelerin önemine Bölüm 17'de tekrar değineceğiz

Uzun-Dönemli Enerji Depoları

ATP hücrede dinamik bir dönüşüm içindedir; biyosentetik tepkimeleri gerçekleştirebilmek için sürekli yıkıma uğrar ve katabolik tepkimeler sırasında tekrar sentezlenir. Bununla birlikte, aktif olarak büyümekte olan bir hücrede ATP konsantrasyonu oldukça düşük olup, yaklaşık 2 milimolar (mM) kadardır. Mikroorganizmalar uzun-dönemli enerji *deposu* olarak oksitlenebilen ve suda çözünmeyen polimerler üretir ve bunları daha sonra ATP üretimi için kullanırlar.

Prokaryotlardaki uzun-dönemli enerji depolarına örnek olarak, glukoz polimeri olan glikojen (Şekil 3.6), lipid polimeri olan poli-β-hidroksibütirat ve diğer polihidroksialkanoatlar (Şekil 4.52) ve birçok kükürt kemolitotrofu tarafından depolanan elementer kükürt verilebilir (Şekil 2.10*b*). Bu polimerler hücre içerisinde ışık ya da elektron mikroskobu ile görülebilecek kadar büyük polimerler halinde depolanır (Kısım 4.11). Ökaryotik mikroorganizmalardaki en temel depo maddeleri, glukoz polimeri olan nişasta (Şekil 3.6), ya da basit yağ formundaki lipiddir (Şekil 3.7). Çevrede enerji kaynağı bulunmayan durumlarda, yeni hücre materyallerini oluşturmak ya da hücre bütünlüğünü sürdürmek için gerekli olan enerji, bu polimerlerin oksidasyonundan sağlanır.

5.8 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Redoks tepkimelerinde açığa çıkan enerji, enerji açısından zengin fosfat ya da kükürt bağları içeren bazı bileşiklerin oluşturulmasıyla korunur. Bu tür bileşiklerin en yaygın olanı hücredeki temel enerji taşıyıcısı olan ATP'dir. Enerjinin uzun-dönemli depolanması, ATP sağlamak için tüketilebilen polimerlerin oluşumu ile bağlantılıdır.

- Bir mol ATP'nin ADP + P_i 'ye hidrolizi ile ne kadar enerji açığa çıkar? 1 mol AMP'nin adenozin + P_i'a yıkılması ile ne kadar enerji açığa çıkar?
- Besin bolluğu varken hücreler kendilerini besin kıtlığı sürecine nasıl hazırlar?

IV MERKEZİ KATABOLİK YOLLAR, ELEKTRON TAŞINMASI VE PROTON MOTIVE GÜÇ

Mikroorganizmalardaki bazı yaygın katabolik tepkimeleri daha sonra gözden geçireceğiz. Öncelikle fermentasyon ve solunum süreçlerini karşılaştıracak, daha sonra da bu süreçlerin her birini daha ayrıntılı olarak inceleyeceğiz. Ardından, anaerobik solunum, fotosentez ve kemolitotrofinin de dahil olduğu solunum ve diğer katabolik süreçlerin temel sonucu olan proton motive güç ile ilgili tartışmalara yöneleceğiz. Proton motive güç hem hücreye ATP sağlar, hem de hücredeki birçok aktarım tepkimelerini, kamçı ve kayma hareketleri gibi işlevleri yürütür (Kısım 4.7 ve 4.14-4.16).

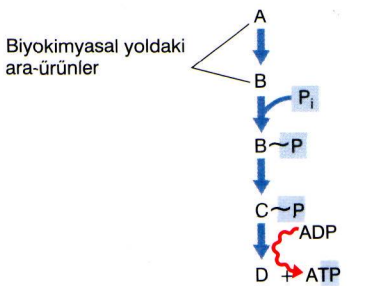
5.9 Enerjinin Korunması: Tercihler

Kemoorganotroflarda enerjinin saklanması ile ilgili iki mekanizma vardır: **fermentasyon** ve **solunum**. Her iki mekanizmada da, ATP sentezi oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinden açığa çıkan enerji ile sürdürülür. Bununla birlikte, fermentasyon ve solunumdaki redoks tepkimeleri önemli ölçüde farklılık gösterir. *Fermentasyon*daki redoks süreci, eksojen elektron alıcılarının *yokluğunda* gerçekleşir. *Solunum*da ise, son elektron alıcısı olarak moleküler oksijen ya da diğer elektron alıcıları bulunur.

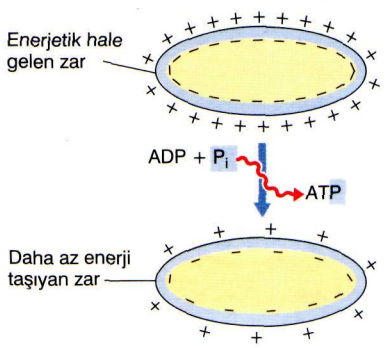
Her oksidasyon bir redüksiyon ile birlikte cereyan etmek zorunda olduğu için, fermentasyondaki oksidasyon tepkimesi, *elektron vericisinden türeyen* bir bileşiğin redüksiyonu ile eşleşir. Diğer taraftan solunumda, *eksojen* elektron alıcısı indirgenir. Bu durum fermentasyonda elde edilen enerji miktarının kısıtlı kalmasına yol açar. Daha sonraki bölümlerde fermentasyon ve solunumdaki enerji kazançları karşılaştırılacaktır.

Substrat-Düzeyinde Fosforilasyon ve Oksidatif Fosforilasyon

Fermentasyon ile solunum arasında hem elektron alıcılarının niteliği, hem de ATP sentezleme *mekanizmaları* açısından farklılıklar vardır. Fermentasyonda **substrat-düzeyinde fosforilasyon** ile ATP üretilir. Bu süreçteki ATP sentezi, organik bir bileşiğin yıkım basamakları sırasında gerçekleştirilir (Şekil 5.13*a*●). Bu tip ATP sentezi, **oksidatif fosforilasyon** ile gerçekleşen ATP sentezinden farklıdır (Şekil 5.13*b*). Oksidatif fosforilasyon sırasındaki ATP sentezi proton motive güç varlığında gerçekleşir. ATP sentezinin üçüncü bir şekli olan **fotofosforilasyon** fototrofik organizmalarda söz konusudur. Fotofosforilasyonun temel mekanizması oksidatif fosforilasyona benzemekle birlikte, fotofosforilasyondaki proton motive gücü oluşturan redoks tepkimeleri, bir kimyasal bileşik tarafından değil, *ışık* tarafından sürdürülür (Kısım 17.2).



(a) **Substrat-düzeyinde fosforilasyon**



(b) **Oksidatif fosforilasyon**

● **Şekil 5.13 Fermentasyon ve solunumda enerji korunumu.** (a) fermentasyon işleminde, fosfat grubunun biyokimyasal yoldaki bazı ara moleküllere eklendiği ve neticede ATP oluşturmak için ADP molekülüne transfer edildiği *substrat-seviyesinde fosforilasyonun* sonucu olarak ATP sentezi meydana gelmektedir. (b) Solunumda, proton motive güç tarafından enerji bakımından yüklü hale gelen sitoplazmik zar bu enerjisinin bir kısmını *oksidatif fosforilasyon* adı verilen işlemde inorganik fosfat (P_i) ve ADP molekülünden ATP oluşumu için kullanır. Proton motive gücün ATP sentezi ile bağlantısı ATP sentetaz (ATPaz) olarak membran protein enzim kompleksi olarak isimlendirilen aracılığıyla meydana gelmektedir (bakınız Kısım 5.12 ve Şekil 5.21).

5.9 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Kemoorganotroflar organik bileşikleri fermentasyon ve solunum aracılığı ile okside ederek enerji sağlarlar. Bu katabolik tepkimeler sırasında ya substrat-düzeyinde fosforilasyon (fermentasyon) ya da oksidatif fosforilasyon (solunum) aracılığıyla ATP üretilir.

- Hangi ATP sentezi sitoplazmik zarın katılımını gerektirir? Neden?
- Substrat-düzeyinde fosforilasyon ile oksidatif fosforilasyon arasında ne fark vardır?

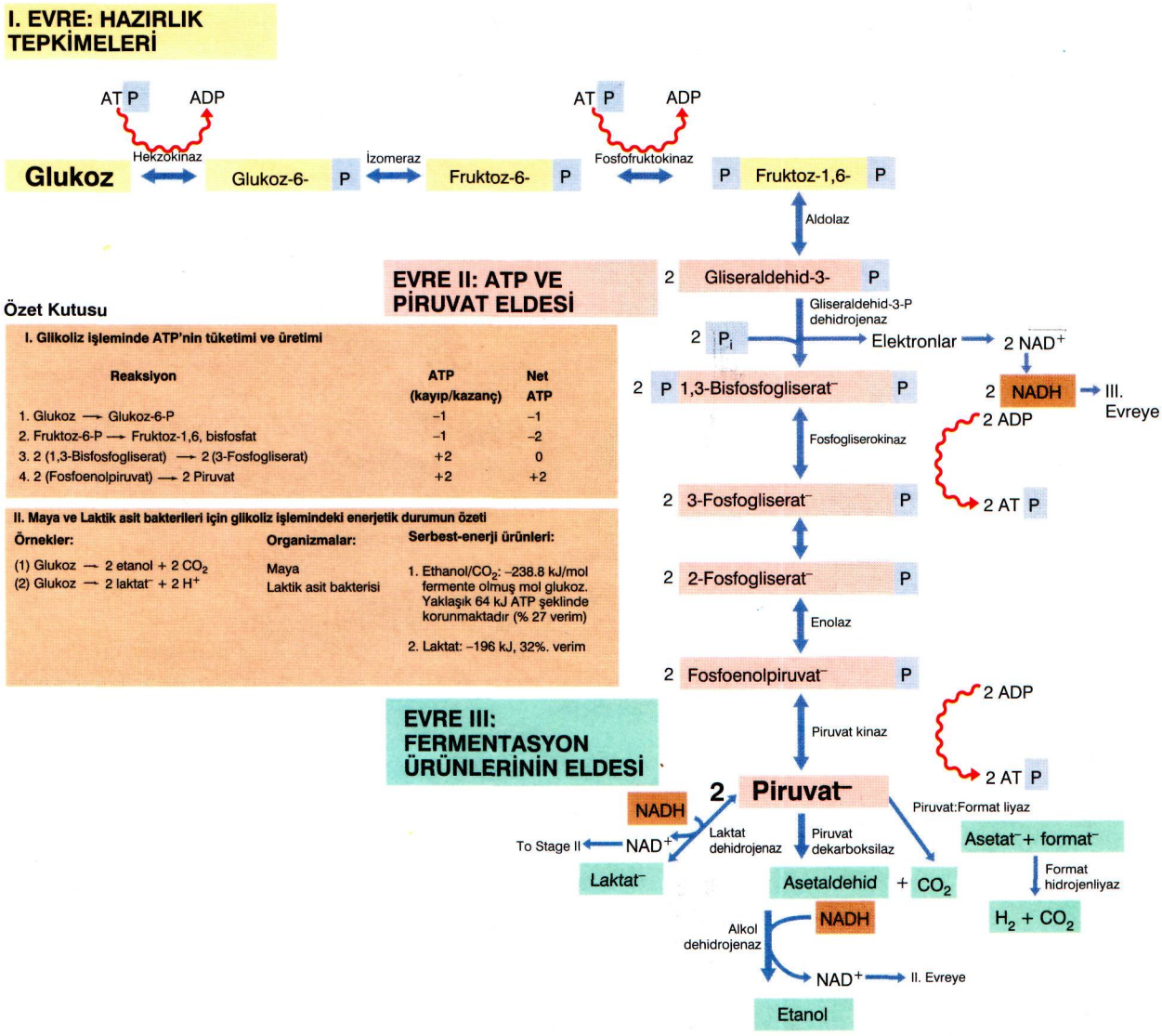
5.10 Bir Fermentasyon Örneği Olarak Glikoliz

Daha önce değindiğimiz gibi fermentasyon, *kendi içinde dengelenmiş* bir oksidasyon-redüksiyon tepkimesidir. Fermentasyonda, elektron vericisinin bazı atomları daha redükte hale gelirken, bazı atomları daha fazla oksitlenmekte ve enerji substrat-düzeyinde fosforilasyon ile korunmaktadır. Glukozun fermentasyonu için yaygın olan biyokimyasal yol, aynı zamanda keşfedicisinin adı olan **Embden-Meyerhof** yolu olarak da isimlendirilen **glikoliz**dir. Başka fermentasyon çeşitleri de bilinmektedir (Bölüm 17).

Glikoliz oksijennin olmadığı bir süreç olup, üç temel evre içerir. Bu evrelerin her biri ayrı enzimler tarafından katalizlenen enzimatik tepkime serileri içerir (Şekil 5.14●). Glikolizin *I. Evresi*, oksidasyon-redüksiyon içermeyen, enerji açığa çıkarmayan, glukozdan 2 molekül *gliseraldehit 3-fosfat* oluşumuna yol açan, hazırlık tepkimeleridir. *II. Evre*de oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri yer alır, enerji ATP şeklinde korunur ve iki molekül piruvat oluşur. *III. Evre*de ise, bir kez daha oksidasyon-redüksiyon tepkimeleri gerçekleşir ve *fermentasyon ürünleri* oluşur (Şekil 5.14).

Glikolizin I. ve II. Evreleri: Hazırlık ve Redoks Tepkimeleri

Birinci evrede, glukoz ATP tarafından fosforile edilir ve glukoz 6-fosfat oluşur. Glukoz 6-fosfat daha sonra izomerik formu olan fruktoz 6-fosfata dönüştürülür. İkinci fosforilasyon, glikolizin anahtar intermediyerlerinden biri olan *fruktoz 1,6 bisfosfat*'ın oluşumuna sebep olur. **Aldolaz** enzimi fruktoz 1,6 bisfosfat molekülünü üç karbonlu iki moleküle yani *gliseraldehit 3-fosfat* ve bunun izomeri olan *dihidroksiaseton fosfat*a yıkar. Dihidroksiaseton fosfat glise-



Özet Kutusu

I. Glikoliz işleminde ATP'nin tüketimi ve üretimi

Reaksiyon	ATP (kayıp/kazanç)	Net ATP
1. Glukoz → Glukoz-6-P	–1	–1
2. Fruktoz-6-P → Fruktoz-1,6, bisfosfat	–1	–2
3. 2 (1,3-Bisfosfogliserat) → 2 (3-Fosfogliserat)	+2	0
4. 2 (Fosfoenolpiruvat) → 2 Piruvat	+2	+2

II. Maya ve Laktik asit bakterileri için glikoliz işlemindeki enerjetik durumun özeti

Örnekler:	Organizmalar:	Serbest-enerji ürünleri:
(1) Glukoz → 2 etanol + 2 CO_2	Maya	1. Ethanol/CO_2: –238.8 kJ/mol fermente olmuş mol glukoz. Yaklaşık 64 kJ ATP şeklinde korunmaktadır (% 27 verim)
(2) Glukoz → 2 laktat$^-$ + 2 H^+	Laktik asit bakterisi	2. Laktat: –196 kJ, 32%. verim

● **Şekil 5.14** **Embden-Meyerhof yolu (Glikoliz).** Glukoz'un piruvata ve daha sonra fermentasyon ürünlerine dönüşümündeki enzimatik tepkimeler dizisi (enzimler küçük yazı formunda yazılmıştır). Aldolaz enziminin ürünü aslında gliseraldehit 3-fosfat ve dihidroksiaseton fosfattır. Ancak dihidroksiaseton fosfat gliseraldehit 3-fosfata dönüştürülür. Piruvat molekülünün glikolizde merkezi bir rol oynadığına dikkat ediniz. Tüm fermentasyon ürünleri piruvatdan oluşur. Burada bu ürünlere ait birkaç yaygın örnek verilmektedir.

raldehit 3-fosfata dönüştürülür. Buraya kadar olan tepkimeler, ATP'nin tüketimi de dahil olmak üzere, redoks tepkimeleri olmadan gerçekleşir.

Glikolizin ilk redoks tepkimesi II. evrede, gliseraldehit 3-fosfatın 1,3-bifosfogliserik aside dönüşümü sırasında cereyan eder. Bu tepkimeyi katalizleyen **gliseraldehit 3-fosfat dehidrojenaz** enzimi koenzim olarak NAD^+ içerir ve NADH oluşturmak üzere $2e^-$ ve $2H^+$ alır. Bu tepkime sırasında NAD^+'nin redüksiyonu ile eş zamanlı olarak, her bir gliseraldehit 3-fosfat molekülüne bir tane inorganik fosfat molekülü eklenir. İnorganik fosfatın organik forma dönüştüğü bu tepkime, substrat-düzeyinde fosforilasyon ile enerjinin korunması için bir hazırlık niteliğindedir. 1,3-bisfosfogliserik asit molekülündeki her bir fosfatın hidrolizi ile >30kJ'lük serbest enerji açığa çıkacağı için, ATP oluşumu mümkündür. (Bkz. Şekil 5.12). ATP sentezi: (1) her bir 1,3-bisfosfogliserik asit molekülü 3-fosfogliserik aside dönüştüğünde ve (2) her bir fosfoenolpiruvat molekülü piruvata dönüştüğünde gerçekleşir (Şekil 5.14).

Glikolizin I. evresinde glukozun fosforile edildiği *iki* basamakta 2 molekül ATP harcanır, II. evre tepkimeleri sırasında ise *dört* molekül ATP sentezlenir (piruvata dönüştürülen her bir 1,3-bisfosfogliserik asitten iki adet olmak üzere) (Şekil

5.14). Dolayısıyla, glikoliz sürecinde organizmanın net kazancı *fermente olan her glukoz molekülü başına iki molekül ATP*'dir.

III. Evre: Fermentasyon Ürünlerinin Oluşturulması

İki molekül 1,3-bisfosfogliserik asit oluşumu sırasında iki molekül NAD^+ indirgenerek, NADH haline gelir (Bkz. Şekil 5.14). Ancak, gliseraldehit 3-fosfat molekülünün oksidasyonu, sadece açığa çıkan elektronları kabul etmeye hazır serbest NAD^+ varlığında devam edebilir. Bu sorunun çözülmesi için, piruvat molekülünü herhangi bir **fermentasyon ürünü**ne indirgeyen bir enzimin NADH'ı NAD^+'ye okside etmesi gerekir (Şekil 5.14).

Maya söz konusu olduğunda, CO_2 açığa çıkar ve piruvat molekülü *etanol*'e indirgenir. Laktik asit bakterilerinde ise piruvat *laktat* molekülüne indirgenir. Çeşitli fermentatif prokaryotlarda piruvat redüksiyonu için pek çok yol olduğu bilinmektedir (Bölüm 12 ve 17). Ancak bunların hepsinin net sonucu aynıdır ve NADH yeniden NAD^+'ye oksitlenir. NADH difüze olabilen bir koenzim olduğu için, gliseraldehit 3-fosfat dehidrogenaz enziminden uzaklaşır ve piruvat molekülünü laktat molekülüne indirgeyen enzime bağlanır (laktat dehidrogenaz). Laktat dehidrogenaz aktivitesi sırasında oluşan okside NAD^+, yeniden döngüye girmek üzere bu enzimden ayrılır (Şekil 5.14 ve NAD^+/NADH döngüsü için Şekil 5.11'e bakınız).

Enerji-veren herhangi bir süreçte, oksidasyonlarla redüksiyonların denkleşmesi ve uzaklaştırılan her elektron için bir elektron alıcısı bulunması gerekir. Bu nedenle, glikolizin bir enzimatik basamağında *redüklenen* NAD^+ bir başka basamakta *oksitlenir*. Böylece denklik sağlanmış olur. Buna ek olarak, son ürün(ler) de başlangıç substratı olan glukoz ile redoks ve atomik açıdan denkleşmek zorundadır. Bu yüzden, burada sözü edilen fermentasyon ürünleri yani etanol + CO_2 ya da laktat + protonlar, aşağıda gösterildiği gibi, başlangıç substratı olan glukoz ile hem elektriksel hem de atomik açıdan denklik içindedir: glukoz ($C_6H_{12}O_6$) = 2 etanol (C_2H_5OH) + $2CO_2$; glukoz ($C_6H_{12}O_6$) = 2 laktat$^-$ ($C_3H_{10}O_3$) + $2H^+$

Glukoz Fermentasyonu: Net ve Pratikteki Sonuçları

Glikoliz sürecinin net sonucu, bir glukoz molekülünün kullanılması, iki molekül ATP'nin sentezlenmesi ve fermentasyon ürünlerinin üretilmesidir. Organizma için kritik öneme sahip olan ürün ATP'dir; çünkü ATP enerji-gerektiren çok çeşitli tepkimelerde kullanılır. Fermentasyon ürünleri ise atık ürünlerdir. Ancak, bira üreticileri, peynir yapımcıları ya da fırıncılar için bu ürünleri atık olarak düşünmek söz konusu değildir (Bkz. Mikrobiyal Okuma Parçası, Maya'nın Fermentasyon Ürünleri). Dolayısıyla fermentasyon, enerji-üreten tepkimeler serisi olmanın çok daha ötesinde bir anlam taşır ve insanlar için faydalı ürünler üretme yoludur. Fermentasyon ürünlerinin endüstriyel üretimini Bölüm 30'da daha ayrıntılı bir şekilde tartışacağız.

5.10 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Glikoliz, fermentasyon ve anaerobik metabolizmanın temel yoludur. Glikoliz sürecinin net sonucu, açığa çıkan az miktardaki enerjinin ATP şeklinde korunması ve fermentasyon ürünlerinin üretimidir. Glikoliz sürecinde tüketilen her bir glukoz için iki molekül ATP üretilir.

- Glikoliz sürecinin hangi basamaklarında oksidasyon ve redüksiyon yer alır?
- NAD^+/NADH glikolizde nasıl bir rol oynar?
- Glikoliz sırasında neden fermentasyon ürünleri yapılır?

5.11 Solunum ve Zara-Bağlı Elektron Taşıyıcıları

Fermentasyon, eksojen elektron alıcısı yokluğunda cereyan eder ve oldukça az miktarda enerji açığa çıkarır. Sonuç olarak sadece birkaç tane ATP molekülü sentezlenir. Bu kadar az miktarda enerjinin açığa çıkması oksidasyon-redüksiyon tepkimelerinin prensiplerine dayanarak açıklanablir: (1) başlangıç bileşiğindeki karbon atomları sadece kısmen oksitlenmektedir (Bkz. Şekil 5.14) ve (2) birincil elektron vericisi ile son elektron alıcısının redüksiyon potansiyelleri arasındaki fark küçüktür.

Buna karşılık, eğer ortamda O_2 ya da başka bir son elektron alıcısı varsa, glukoz molekülü tamamen CO_2'e oksitlenir ve ATP verimi çok daha yüksek olur. Son elektron alıcısının O_2 olması halinde, bu tip oksidasyon **aerobik solunum** olarak adlandırılır.

Aerobik solunum ile ilgili olan bu kısımda karbon transformasyonlarına ve bu süreçte yer alan redoks tepkimelerine değineceğiz. Dolayısıyla, iki konu üzerine odaklanacağız: (1) elektronların bir organik bileşikten son elektron alıcısına aktarılma biçimleri ve (2) organik bileşiğin CO_2'e dönüşümü için gerekli olan biyokimyasal yollar. Birinci konumuz, proton motive gücün kullanılması ile ATP sentezidir (Şekil 5.13*b*). Tartışmamıza elektron akışını inceleyerek başlıyoruz.

Elektron Taşıyıcıları

Elektron taşıma sistemleri *zara-bağlı* elektron taşıyıcılarıdır. Bu sistemlerin iki temel işlevi vardır. Birincisi, elektron taşıma sistemleri elektronların birincil vericiden son alıcıya aktarımına aracılık ederler. İkinci olarak da, elektron aktarımı sırasında açığa çıkan enerjinin bir kısmını ATP sentezi ile korurlar.

Elektron aktarımı için çeşitli oksidasyon-redüksiyon enzimleri gereklidir. Bunlar arasında *NADH dehidrogenaz, flavoproteinler, demir-kükürt proteinleri* ve *sitokromlar* yer almaktadır. Şimdi, bu elektron taşıyıcılarının her birini biraz daha ayrıntılı olarak inceleyeceğiz.

NADH dehidrogenazlar sitoplazmik zarın iç yüzeyine bağlanmış proteinlerdir. Bunlar NADH'ın

Mikrobiyal Ek Bilgi ◆ Maya Fermentasyonu Ürünleri

Evinde şarap ya da bira üreten birisi muhtemelen amatör bir mikrobiyolog olduğunun farkında değildir. Anaerobik süreçlerle enerji eldesi (fermente gıdalar ve içkiler) insan neslinin en önemli keşiflerinden biridir (Şekil 1●).

Ekmek ve alkollü içkilerin çoğunun üretiminde maya olarak *Saccharomyces cerevisiae* kullanılır ve sonuçta etanol ve CO_2 oluşur. Meyve suları ve nektar gibi şeker açısından zengin ortamlardaki mayalar, kemoorganotrof metabolizmanın birbirine zıt iki farklı şekli olan *fermentasyon* ve *solunum* yaparlar. Ortamda oksijen olduğunda, mayalar çeşitli şekerleri kullanarak gelişir ve çoğalırlar. Bu arada da CO_2 oluştururlar (CO_2, sitrik asit döngüsü sırasında ortaya çıkar Bkz. Kısım 5.13). Buna karşılık oksijensiz koşullardaki mayalar fermentasyon metabolizmasına saparlar. Bunun sonucu olarak hücre verimi azalır; ancak önemli miktarlarda alkol ve CO_2 oluşur.

Üzümler, meyve suyu yapmak için ezildiğinde, bağdaki üzümlerin üzerinde bulunan az sayıdaki maya hücreleri şıraya aktarılmış olur. Şarap yapma işleminin ilk bir kaç gününde, maya hücreleri solunum yaparak büyür ve O_2'i tüketerek meyve suyunu oksijensiz hale getirirler. Oksijen tüketilir tüketilmez, fermentasyon başlar ve alkol üretim işlemi devreye girer. Aerobik metabolizmadan anaerobik metabolizmaya dönüşüm oldukça önemlidir ve fermentasyon ortamının hava ile temas etmemesi için özel dikkat gösterilmesi gerekir.

Şarap maya ile yapılan pek çok üründen sadece bir tanesidir. Diğer ürünler arasında bira (Mikrobiyal Okuma Parçası, Evde Bira Üretimi Bölüm 30) ve damıtık alkollü içkiler olan brendi, viski, votka ve cin vardır (Bkz. Şekil 1). Damıtık alkollü içkilerde, maya tarafından oldukça düşük miktarlarda üretilen etanol (hacim olarak %10-15) distilasyon ile konsantre edilir ve içkinin alkol oranı %40-60 olacak şekilde artırılır. Şekerin bol, petrolün kısıtlı olduğu bazı Dünya ülkelerinde (Brezilya gibi) motor yakıtı olarak kullanılan alkol bile maya hücreleri tarafından üretilmektedir. Amerika Birleşik Devletleri'nde endüstriyel çözücü olarak kullanılan etil alkolün büyük kısmı, fermente olabilen substrat olarak mısır nişastası kullanılarak üretilmektedir. Maya ekmek yapımı sırasında da kullanılmakta ve ekmeğin kabarmasını sağlamaktadır. Ancak bu işlemde önemli olan *alkol* değil, alkolik fermentasyonunun *diğer* bir ürünü olan CO_2'dir. Fırınlama işlemi sırasında alkol gaz haline gelerek uçar, CO_2 ise ekmeğin kabarmasını sağlar (Bkz. Şekil 5.14). Maya ve maya ürünlerini daha detaylı olarak Bölüm 30'da ele alacağız.

Şimdi, solunum için gerekli oksijen olmadığı zaman fermentatif yaşam şeklini gerçekleştirmeye zorlanan maya hücrelerinin insan yaşamı üzerinde nasıl etkili olduklarını anlayabiliriz. Mayalardaki glikolitik yolun "atık ürünleri" olan etanol ve CO_2, sırasıyla alkollü içki ve ekmek endüstrilerinin en temel bileşikleridir. ■

Barton Spear

Şekil 1 *Bir maya olan Saccharomyces cerevisiaea tarafından fermentasyon ile üretilen belli başlı ürünler.*

bağlandığı aktif bölge içerir. Aktif bölge $2e^-$ ve $2H^+$ kabul eder. Böylece NADH, NAD^+ ye dönüşür (Şekil 5.10). Daha sonra bu $2e^-$ ve $2H^+$, flavoproteinlere aktarılır.

Flavoproteinler, riboflavin türevleri içeren proteinlerdir (Şekil 5.15●). Proteine bağlı olan flavin kısmı, hidrojen atomlarını aldığında indirgenen ve elektronları aktardığı zaman oksitlenen prostetik bir gruptur. Flavoproteinlerin $2e^-$ ve $2H^+$ *kazandığına* ancak, sadece elektronları *verdiğine* dikkat ediniz. İki protona ne olduğunu daha sonra tartışacağız. Hücrelerde yaygın olarak bulunan iki flavinden biri *flavin mononükleotit* (FMN), diğeri ise *flavin-adenin dinükleotit* (FAD) dir. FAD yapısı içinde yer alan FMN, ikinci bir fosfat aracılığı ile riboz ve adenine bağlanmıştır. Vitamin B_2 olarak da adlandırılan riboflavin, flavoproteinlerdeki flavin molekülünün kaynağı olup, bazı organizmaların gereksindiği bir büyüme faktörüdür (Bkz. Kısım 5.2 ve Tablo 5.3).

Sitokromlar, prostetik grup olarak demir içeren porfirin halkasına (hem) sahip proteinlerdir (Şekil 5.16●). Sitokromlardaki hem grubunda yer alan demir atomu, *tek bir elektron* kazanır ya da kaybeder. Sitokrom bu şekilde oksidasyona ve redüksiyona uğrar:

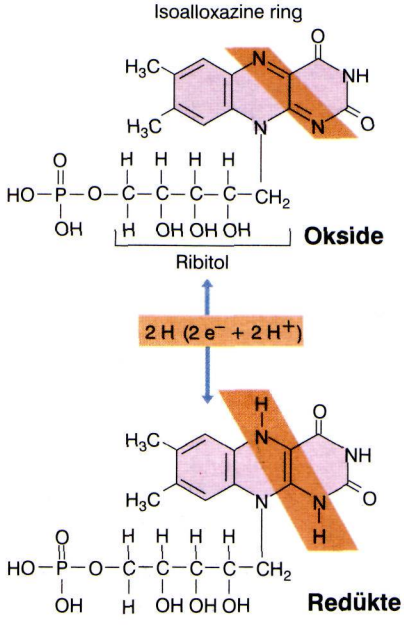
$$\text{Sitokrom} - Fe^{+2} \longleftrightarrow \text{Sitokrom} - Fe^{+3} + e^-$$

Farklı redüksiyon potansiyellerine sahip çeşitli sitokrom sınıfları vardır (Bkz. Şekil 5.9). Farklı sitokrom sınıfları içerdikleri hem grubunun tipi-

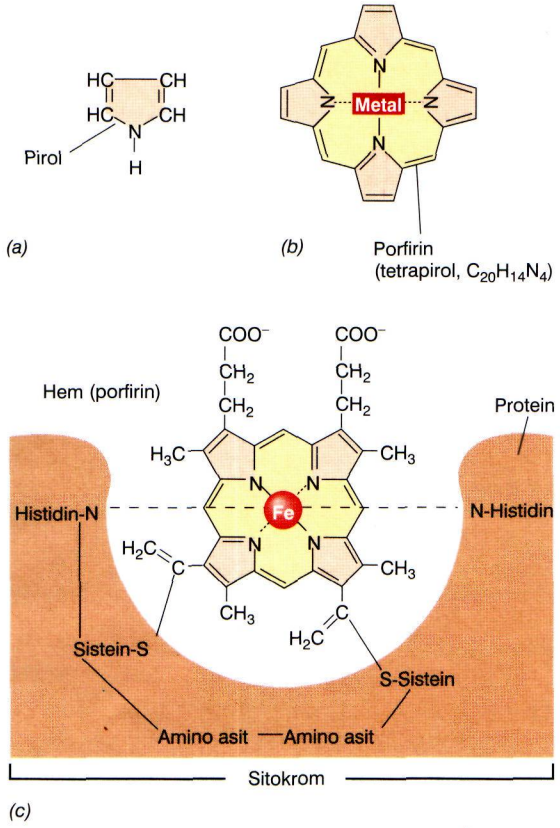
ne bağlı olarak, sitokrom *a*, sitokrom *b*, sitokrom *c* olarak adlandırılırlar. Bir organizmanın sitokromu bir başka organizmanın sitokromundan biraz farklı olabilir. Bu nedenle aynı sınıfa ait sitokromlar sitokrom a_1,a_2,a_3 şeklinde ayırt edilir. Sitokromlar bazen diğer sitokromlarla veya demir-kükürt proteinleri ile kompleks oluştururlar. Örneğin sitokrom bc_1 kompleksi, iki farklı *b*-tipi sitokrom ve bir tane *c*-tipi sitokrom içerir. Daha sonraki bölümlerde göreceğimiz gibi, sitokrom bc_1 kompleksi enerji metabolizmasında önemli bir rol oynar (Bkz. Kısım 5.12 ve Şekil 5.20).

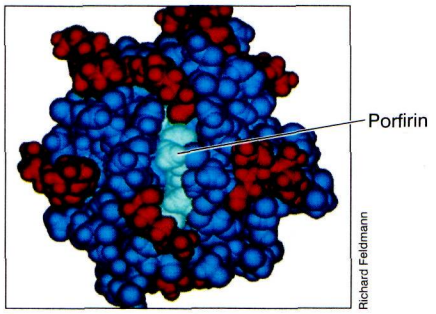
Elektron taşıma zincirlerinde demire-bağlı hem grubu taşıyan sitokromlara ek olarak (Şekil 5.16), **hem içermeyen demir-kükürt proteinleri** de bulunur. Bu proteinler, demir ve kükürt atomlarından oluşmuş bir küme içerir. Bunların en yaygın olanları Fe_2S_2 ve Fe_4S_4 kümeleridir (Şekil 5.17●). Bu kümelerdeki demir atomları hem serbest kükürt atomlarına hem de sistein köklerindeki kükürt atomları aracılığı ile proteine bağlanır (Şekil 5.17). Biyolojik sistemlerde yaygın olarak bulunan bir demir-kükürt proteini olan *ferredoksin*'deki demir-kükürt merkezi Fe_2S_2 konfigürasyonuna sahiptir.

Demir-kükürt proteinlerinin redüksiyon potansiyelleri, kümedeki demir ve kükürt atomlarının sayısına ve demir merkezlerinin proteinlere ne şekilde gömülü olduğuna bağlı olarak, geniş çapta değişmektedir. Dolayısıyla, elektron taşıma zincirinin farklı kısımlarında farklı demir-kükürt proteinleri

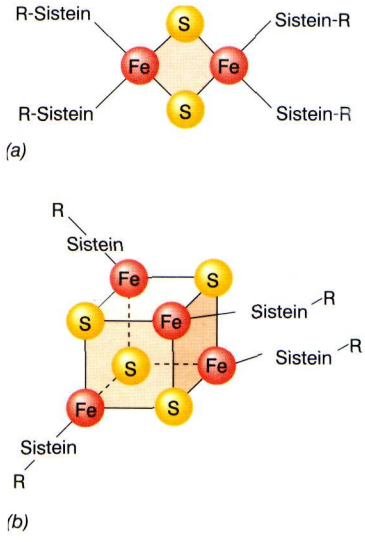


● **Şekil 5.15 Flavin mononükleotit (FMN) (hidrojen atomu taşıyıcısı olan riboflavin fosfat).** Hem FMN hem de FAD aynı kısımlarından okside ve redükte olur.





● **Şekil 5.16 Sitokrom yapısı.** (a) Pirol halkasının yapısı. (b) Dört adet pirol halkası bir araya gelerek porfirin halkasını oluşturur. Çeşitli metaller porfirin halka sistemine dahil olabilirler. Örneğin, klorofil pigmentlerinde bulunan metal Mg^{+2}, (Kısım 17.2 ve Şekil 17.3); vitamin B_{12} deki metal Co^{+2} (Kısım 30.7 ve Şekil 17.3) ve bazı çok özel porfirin koenzimlerinde yer alan metal ise Ni^{+2}dir (Kısım 17.17 ve Şekil 17.42). (c) Sitokrom *c* gibi bazı sitokromlarda, porfirin halkası proteindeki sistein moleküllerine disülfit köprüleri aracılığı ile kovalent olarak bağlanmıştır. Halkanın merkezindeki demire dikkat ediniz. (d) Sitokrom *c*'nin bilgisayarda-oluşturulmuş modeli. Merkezdeki porfirin halkası (açık renk) protein tarafından çepeçevre sarılmıştır. Sitokromlar sadece elektron taşırlar. Sitokromların redoks bölgesi demir atomu olup, bu demirin oksidasyon statüsü Fe^{2+} ve Fe^{3+} olacak şekilde değişir. Farklı sitokromların redüksiyon potansiyelleri sitokromun tipine ve proteine bağlanma tarzına bağlı olarak geniş ölçüde değişir (Bkz. Şekil 5.9).



● **Şekil 5.17 Hem içermeyen demir-kükürt proteinlerinde demir-kükürt merkezlerinin düzenlenişi.** (a) Fe_2S_2 merkezi. (b) Fe_4S_4 merkezi. Sistein bağları molekülün protein kısmına aittir. Demir-kükürt proteinleri tipik olarak sadece elektron taşırlar.

işlev görebilir. Sitokromlar gibi demir-kükürt proteinleri de sadece elektron taşırlar.

Kinonlar (Şekil 5.18●), protein-içermeyen ve hidrofobik özellikte olan elektron taşıma zinciri üyeleridir. Bakterilerde bulunan bazı kinonlar yüksek hayvanlarda büyüme faktörü olarak iş gören K vitaminine benzer. Flavoproteinler gibi kinonlar da, $2e^- + 2H^+$ alır; fakat zincirde kendilerinden bir sonra yer alan taşıyıcıya sadece elektronları aktarırlar.

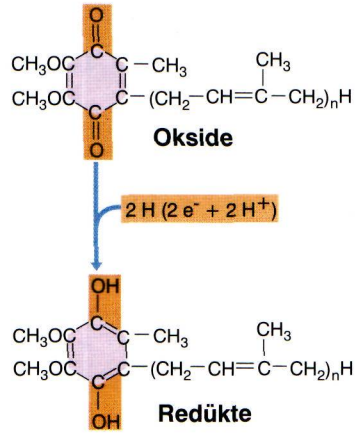
5.11 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Elektron taşıma sistemi, elektronları birincil elektron vericisinden son elektron alıcısı olan oksijene taşıyan, zarabağlı bir seri elektron taşıyıcısı içerir.

- ◆ Kinonlar hangi özellikleri açısından zardaki diğer elektron taşıyıcılarından farklıdırlar?
- ◆ Bu kısımda anlatılan elektron taşıyıcılarından hangisi $2e^- + 2H^+$ alır?

5.12 Proton Motive Güçten Enerji Eldesi

Elektron taşıma zincirlerinin en temel bileşenleri ve bunların E_0' değerleri Şekil 5.19●'da gösterilmiştir. Her bileşenin kendine özgü bir redüksiyon potansiyeline sahip olduğuna dikkat ediniz. Elektron aktarımı sırasındaki ATP sentezi, *oksidatif fosforilasyon* süreci ile gerçekleşir. ATP'nin üretilmesi zarın iki yüzeyi arasında ortaya çıkan **proton motive güç (pmf)** ile bağlantılıdır (Kısım 4.6). Enerji yüklü olan bu durum elektron taşıma tepkimeleri ile yaratılır. Şimdi bu temel hücresel sürecin ayrıntılarını gözden geçireceğiz.



● **Şekil 5.18 Bir kinon olan koenzim Q'nun okside ve redükte formları.** Yan zincirdeki beş-karbonlu izoprenoid birimleri farklı sayıda olabilir. Prokaryotlarda en yaygın olan sayı $n = 6$, ökaryotlarda ise $n = 10$'dur. Okside kinonun tamamen redükte duruma gelmesi için $2e^- + 2H^+$ gerektirdiğine dikkat ediniz. Kinon molekülünün indirgenmesi sırasında bir geçiş formu olan semikinon oluşur.

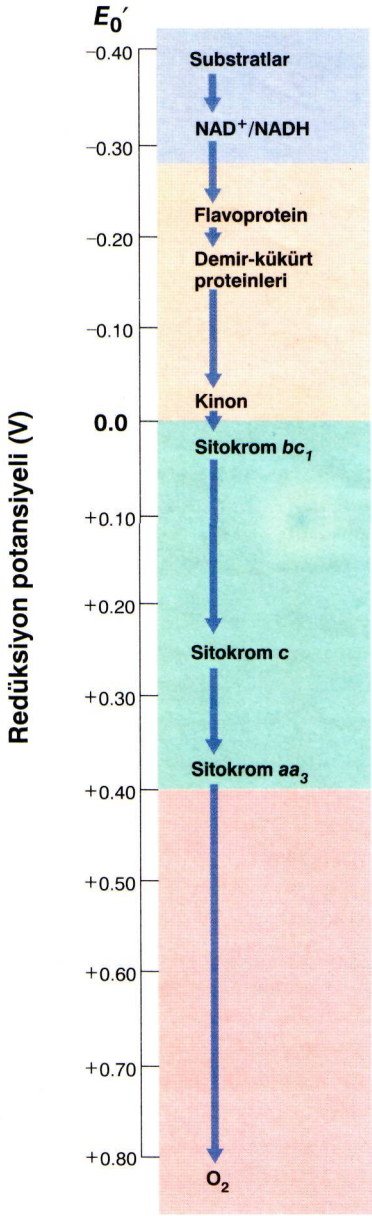
Proton motive Güç: Kemiozmoz

Elektron taşınması ile ATP sentezi arasındaki ilişkiyi anlamak için, öncelikle elektron taşıma sisteminin sitoplazmik zara nasıl yerleştiğini anlamalıyız. Zarın genel yapısı Kısım 4.5'de (Şekil 4.16) şematik olarak verilmiştir. Proteinlerin zarın lipid tabakasına gömülü olduklarını ve bunların çoğunun hem hücrenin içine hem de dışına erişebildiklerini anımsayalım. Diğer bir deyişle, integral zar proteinleri tipik olarak zarı-kateden (*transmembran)* proteinlerdir.

Elektron taşıyıcılarının zardaki yerleşimleri, taşıma işlemi sırasında protonların elektronlardan ayrılmasını sağlamaya uygundur. NADH gibi bir molekülden uzaklaştırılan iki elektron ve iki proton özgül taşıyıcılar aracılığıyla zincirin başından sonuna doğru taşınırlar. Bu sırada protonlar hücre dışına pompalanır (gram-negatif prokaryotlarda protonlar periplazmaya pompalanır). Protonların dışarıya çıkışı, zarın dış yüzeyinin nispeten asidik hale gelmesine neden olur. Elektronlar, elektron taşıma zincirinin sonunda son elektron alıcısına aktarılırlar. Aerobik solunum yapan organizmalarda son elektron alıcısı O_2'dir. Böylece oksijen suya indirgenir.

O_2'nin H_2O'ya indirgenmesi için, reaksiyonu tamamlamak adına sitoplazmadaki protonlara gerek vardır. Bu protonlar su molekülünün H^+ ve OH^- vermek üzere disosiye olmasıyla oluşur. H^+'lar hem O_2'nin H_2O'ya indirgenmesinde kullanıldığı, hem de hücre dışına pompalandıkları için, zarın *iç* tarafında OH^- birikir. Küçük boyutlu olmalarına rağmen ne H^+ ne de OH^- zardan difüze olabilir; çünkü her ikisi de elektriksel olarak yüklüdür. Dolayısıyla, kendiliğinden dengeye ulaşılması mümkün olmaz.

Elektron taşınmasının net sonucu, zarın iki yüzeyi arasında hem *pH gradiyenti* hem de *elektro-*



● **Şekil 5.19 Elektron taşıma zinciri ve E_0' ile ilişkisi.** Burada elektron taşıma sistemlerine ait bir örnek verilmişir. Bu örnekte elektronlar birincil elektron vericisinden (substrat olarak belirtilmiş) O_2'e (son eleketron alıcısı) aktarılmaktadır. Ökaryotik hücrelerin mitokondrilerinde ve bazı *Bacteria*'da (özellikle *Paracoccus denitrificans*) zincirdeki elektron taşıyıcılarının sırası burada görüldüğü gibidir. *Escherichia coli*'deki elektron taşıma zinciri sitokrom *c* ve aa_3 içermez ve elektronlar sitokrom *b*'den doğrudan doğruya terminal oksidaz olan sitokrom *o* veya *c*'ye geçerler (Şekil 17.37*a*). ATP sentezine yol açan proton motive güç oluşumu, enerjinin korunmasını mümkün kılar. Buradaki renk-kodlamalarını Şekil 5.9'dakiler ile karşılaştırınız.

kimyasal potansiyel ortaya çıkmasıdır. Zarın *iç* yüzeyi negatif elektrik yüklü ve bazik hale gelirken, *dış* yüzeyi elektriksel olarak pozitif ve asidiktir. Bu pH gradiyenti ve elektrokimyasal potansiyel (ikisi bir arada *proton motive güç* olarak isimlendirilir) zarın bir batarya gibi enerji yüklü hale gelmesine neden olur. Ortaya çıkan elektriksel enerjinin bir kısmı hücre tarafından ATP şeklinde korunur.

Elektron taşınması sırasında zarın enerjetik hale gelmesi, iyon taşınması (Kısım 4.7), kamçı rotasyonu (Kısım 4.14) gibi işlerde ya da daha sonraki kısımlarda bahsedeceğimiz gibi ATP sentezini gerçekleştirmek için kullanılır. ATP sentezini sürdüren proton gradiyenti kavramı ilk olarak 1961 yılında İngiliz bilim adamı Peter Mitchell tarafından *kemiozmotik teori* olarak önerilmiştir. Bu kavram, fermentasyon hariç her türlü enerji metabolizmasının açıklanmasında çok önemli katkı sağlamış ve bu önemli katkıdan dolayı Mitchell daha sonra Nobel ile ödüllendirilmiştir. **Kemiozmoz** prosesi *Bacteria*, *Archaea* ve *Eukarya*'nın *tümünde* gerçekleşir.

Proton motive Gücün Oluşumu: Kompleks I ve II

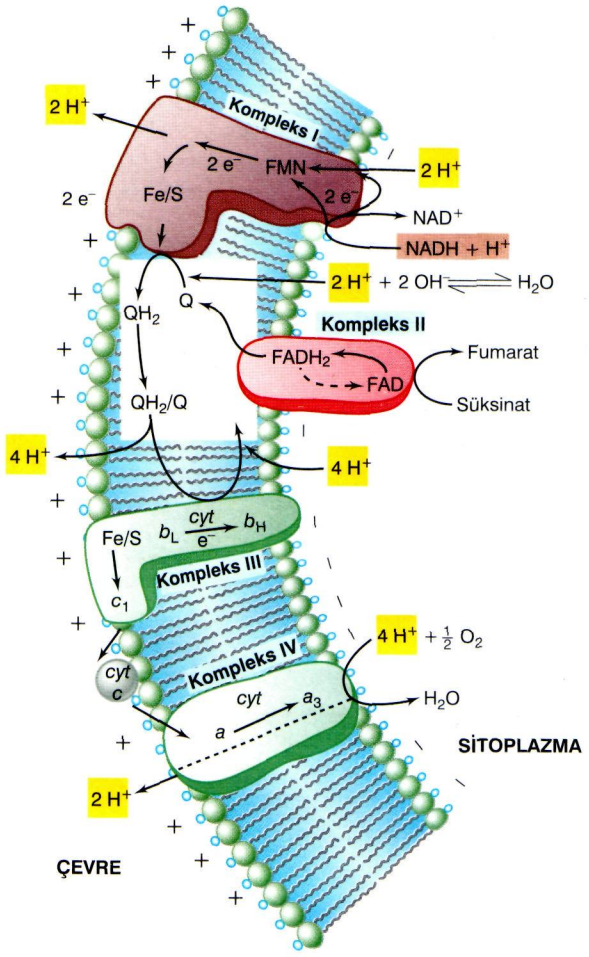
Proton motive güç flavin enzimleri, kinonlar, sitokrom bc_1 kompleksi ve terminal oksidaz aktiviteleri ile ortaya çıkar. Şimdi bu taşıyıcıları sırayla inceleyelim.

NADH'dan FAD'ye $2e^-$ + $2H^+$ aktarımı sonucunda FADH oluşur. FADH üzerindeki iki elektronu zardaki *Kompleks I* proteininin bir parçası olan hem-olmayan demir proteinine verir. Bu sırada $2H^+$ zarın dış tarafına aktarılır (Şekil 5.20●). Bu taşıyıcılar "kompleks" olarak anılır; çünkü her biri çeşitli proteinler içermektedir. Örneğin, *Escherichia coli*'deki Kompleks I gerçekte 14 farklı protein içerir. Kompleks I'in diğer adı *NADH:kinon oksidoredüktaz*'dır. Bu kompleksin katalizlediği net tepkimede NADH oksitlenmekte, kinon ise redüklenmektedir. Kompleks I'de yer alan hem-olmayan demir proteini, koenzim Q'yu indirgerken, su molekülünün disosiye olması sonucunda oluşan iki proton sitoplazmadan alınır (Şekil 5.20).

Kompleks II, Kompleks I'deki basamakları bypass ederek elektron ve protonları doğrudan doğruya kinon havuzuna verir (FAD/FADH aracılığı ile). Kompleks II, *süksinat dehidrogenaz kompleksi* olarak da adlandırılır. Bu kompleks sitrik asit döngüsü ürünü olan *süksinat*'ı oksitlediği için bu ismi alır (Bkz. Şekil 5.22). Kompleks II Kompleks I'i atladığı için, bu noktadan zincire giren her elektron çifti başına dışarı pompalananan protonların sayısı Kompleks I'e oranla daha az olacaktır (Şekil 5.20).

Kompleks III ve IV: Sitokrom bc_1 ve *a*-tipi Sitokromlar

Redükte koenzim Q elektronları *sitokrom* bc_1 kompleksine birer birer aktarır. Kompleks III Şekil 5.20'de görülmektedir. *Sitokrom* bc_1 kompleksi çeşitli protein-



● **Şekil 5.20 Aerobik solunum sırasında proton motive gücün oluşumu.** Şekilde, solunum çalışmalarında prokaryotik model olarak kullanılan *Paracoccus denitrificans* zarındaki elektron taşıyıcılarının dizilimi görülmektedir. Zarın iki tarafındaki + ve – yükler sırasıyla H^+ ve OH^-'ı temsil etmektedir. Kısaltmalar: FMN, flavoprotein; FAD, flavin adenin dinükleotit; Q, kinon; Fe/S, demir kükürt proteini; sit *a*, *b*, *c*, sitokromlar (b_L ve b_H sırasıyla düşük ve yüksek potansiyele sahip *b*-tipi sitokromlar). Kinonun bulunduğu kısımda elektronların çevrime girmesi "Q döngüsü" ile başarılır. Bunun sebebi, QH_2'den gelen elektronların bc_1 kompleksindeki (Kompleks III) Fe/S proteini ile *b*-tipi sitokromlar arasında paylaşılmasıdır. *b*-tipi sitokromlar boyunca hareket eden elektronlar Q'yu QH_2'ye indirger ve dolayısıyla Q-bc_1 bölgesinden pompalanan protonların sayısı artırılır. Fe/S'ye hareket eden elektronlar Kompleks IV'de yer alan sitokram c_1, sonra sitokrom *c* ve daha sonra *a*-tipi sitokromları indirgemeye devam eder ve nihayetinde O_2'yi H_2O'ya indirgerler ($\frac{1}{2}O_2$'yi H_2O'ya indirgemek için iki elektron ve iki proton gerekir. İki elektron sit *c* üzerinden gelirken, protonlar sitoplazmadan sağlanmaktadır). Süksinat dehidrogenaz kompleksi olarak da anılan Kompleks II, Kompleks I'i atlar ve elektronları doğrudan doğruya kinon havuzunda besler. Burada gösterilen komplekslerin sayısı, zar biyoenerjetiği alanında çalışan bilim adamlarının kullandığı şekilde verilmiştir. Burada görülen elektron taşıma zincirini Şekil 17.37'de *Escherichia coli* için verilen modelle karşılaştırınız. Büyüme koşullarındaki farklılıklar herhangi bir elektron taşıma zincirinde bulunan bileşenleri önemli ölçüde etkilemektedir.

ler içeren bir birlikteliktir. Bu proteinler hem grupları ya da metal merkezleri içerir. Bunlar arasında iki adet *b*-tipi hem (b_L ve b_H), bir tane *c*-tipi hem (c_1), bir tane de Fe/S proteini (*Rieske proteini*) vardır. bc_1 kompleksi solunum yapan çoğu organizmanın elektron taşıma zincirinde bulunur. Aynı zamanda fotosentetik elektron akışında da rol oynar (Kısım 17.4 ve 17.5).

Sitokrom bc_1 kompleksinin temel işlevi elektronları kinonlardan sitokrom *c*'ye aktarmaktır (Şekil 5.20). Elektronlar bc_1 kompleksinden periplazmadaki sitokrom *c*'ye ve buradan da yüksek potansiyele sahip sitokrom *a* ve a_3'e doğru hareket ederler (Kompleks IV, Şekil 5.20). Sitokrom a_3 terminal oksidaz olup elektron taşınmasının son basamağında O_2'yi H_2O'ya indirger. Kompleks IV de tepkimede harcanan her $2e^-$ için $2H^+$ pompalar (Şekil 5.20).

Sitokrom bc_1 kompleksi Q-bc_1 bölgesinden ilave iki proton daha pompalamak için, kinon havuzu ile etkileşim halindedir (Şekil 5.20). Bunun nedeni *Q döngüsü* olarak isimlendirilen bir seri elektron alış verişidir. Kinon ve bc_1 aşağı yukarı aynı E_0' değerlerine sahip olduklarından (hemen hemen 0 V, Şekil 5.19), kinon molekülleri bc_1'den geri beslenen elektronları kullanarak birbirlerini dönüşümlü olarak oksitler ve indirger. Detayları şu anda bizi ilgilendirmeyen bu mekanizma, Kompleks I'den zincire giren her $2e^-$ için, Q-bc_1 bölgesinde zarın dış yüzeyine doğru toplam $4H^+$'ın pompalanmasına olanak sağlar (Şekil 5.20).

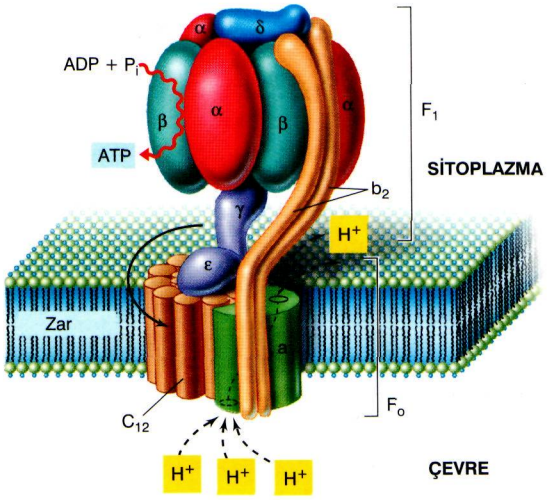
Şekil 5.20'de gösterilen elektron taşıma şeması, farklı organizmalarda bulunan pek çok farklı sıralanıştan sadece bir tanesidir. Bununla birlikte, *tüm* elektron taşıma zincirlerinde ortak olan çeşitli özellikler vardır: (1) zara-bağlı olan ve daha pozitif E_0' değerlerine doğru sıralanan bir seri elektron taşıyıcısı; (2) sadece elektron taşıyanlarla, elektron ile birlikte proton taşıyan bileşenlerin zincirde almaşık olarak yer almaları; (3) elektrik yüklerinin zarın iki yüzeyi arasında, dış tarafın asidik iç tarafın ise bazik olmasını sağlayacak şekilde dağılımının sonucu olarak proton motive güç oluşturulması.

Şimdi göreceğimiz gibi, ATP sentezini sağlayan etmen proton motive gücün kendisidir.

ATPazlar, Proton motive Güç ve ATP Oluşumu

Elektron taşınması (Şekil 5.20) tarafından oluşturulan proton motive güç ATP sentezini nasıl başarır? İlginç bir şekilde, ATP sentez mekanizması ve bakteriyal kamçının dönüşünü sağlayan motor mekanizması arasında oldukça güçlü bir paralellik vardır (Kısım 4.14 ve Şekil 4.56). Proton motive gücü ATP molekülüne dönüştüren katalizör, zarda yerleşmiş büyük bir kompleks olan ve kısaca **ATPaz** olarak isimlendirilen **ATP sentaz** enzimidir. ATPaz *Kompleks V* olarak da anılır.

ATPazlar iki ana kısım içerir: F_1 olarak adlandırılan ve zarın *sitoplazmik* tarafında yerleşmiş olan çoklu alt üniteye sahip baş kısım ve F_o olarak adlandırılan ve *zarı boydan boya kat ederek* proton-geçişine olanak sağlayan kanal kısmı (Şekil 5.21●). F_1/F_o kompleksi,



● **Şekil 5.21 ATP sintaz'ın (ATPaz, Kompleks V) yapısı ve işlevi** F_1 kısmı beş farklı polipeptidden oluşan $\alpha_3\beta_3\gamma\varepsilon\delta$ kompleksi halindedir. F_1 ADP + P_i'ın ATP'ye dönüşümünden sorumlu olan katalitik komplekstir. F_o, zara gömülü olup, ab_2c_{12} kompleksi halinde üç tip polipeptitd içermektedir. a alt birimi, protonları zarın içine doğru kanalize ederken, iki adet b alt birimi zardan dışarıya doğru çıkıntı bir yapar ve δ alt birimi ile birlikte statoru oluşturur. Protonlar içeri girdikçe proton motive güçün ortadan kalkması ATP sentezini mümkün kılar. ATPaz'ın etkisi geridönüşümlüdür; yani, ATP hidrolizi proton motive güç oluşumuna yol açar.

ATP ile ADP + P_i arasındaki tersinir tepkimeyi katalizler. ATPaz proteinlerinin yapısı tüm canlı domainlerinde korunmuştur. Bu bize, bu tarzdaki enerji saklama mekanizmasının, evrimin oldukça erken evresinde keşfedildiği fikrini verir (Kısım 11.2).

F_1/F_o ATPaz bilinen en küçük biyolojik motordur. F_o'ın a alt birimi boyunca gerçekleşen proton hareketi *c* proteinlerinin dönmesini sağlayarak,$\gamma\varepsilon$ alt üniteleri tarafından F_1'e aktarılan dönme momenti (tork) yaratırlar (Şekil 5.21). Enerji $\gamma\varepsilon$ alt birimlerinin eşleşmiş dönüşü aracılığı ile F_1'e aktarılır. Bu durum β alt birimlerinde konformasyon değişikliğine neden olur. Böylece ATP üretmek için gereken potansiyel enerji sağlanmış olur. β alt birimlerindeki konformasyonal değişiklikler ADP + P_i'nin her bir alt üniteye sırayla bağlanmasına olanak sağlar.

β alt birimi başlangıçtaki konformasyonuna geri döndüğü zaman ADP + P_i'nin ATP'ye dönüşümü gerçekleşir. Kamçı motoru ile kıyaslandığında (Şekil 4.56), F_1'in $b_2\delta$ alt birimlerinin birincil işlevi stator olarak hizmet etmektir. Böylece α ve β alt birimlerinin $\gamma\varepsilon$ ile birlikte dönmesi engellenir ve β'daki konformasyonal değişiklik etkilenir. Ancak kamçının aksine ATPaz'ın dönmesi hücreyi ileriye itmek için değil, ATP sentezlemek için kullanılır (Şekil 5.21). ATPaz tarafından katalizlenen ATP sentezi solunum ile ilgili sistemlerde **oksidatif fosforilasyon**, fototrofik organizmalarda ise **fotofosforilasyon** olarak adlandırılır. Üretilen her ATP molekülü başına ATPaz tarafından kullanılan protonların sayısına ilişkin stokiyometrik ölçümler, 3 ile 4 arasında bir sayı ortaya çıkarır.

ATPaz'ın Tersinir Olması

Bu minik F_o/F_1 moleküler motoru tersinir olarak çalışır. ATP hidrolizi, γ alt ünitesini zıt yönde döndürmek için gerekli olan momenti (tork) sağlayarak, *a* alt ünitesi aracılığı ile protonların hücre içinden dışarıya doğru pompalanmasına sebep olur. Bu olaylar proton motive gücü *ortadan kaldırmak* yerine proton motive güç *oluşturur*. ATPaz'ın tersinir olması, elektron taşıma zincirlerinden yoksun olan ve oksidatif fosforilasyon yapamayan zorunlu fermentatif organizmaların neden halen bu tür enzim komplekslerini sentezlediklerini açıklar. Hareket ve taşıma gibi önemli hücresel tepkimelerin çoğu, ATP'den sağlanan enerjiden ziyade proton motive güçten elde edilen enerjiye gereksinim duymaktadır (Kısım 4.6). Dolayısıyla, solunum yapmayan örneğin laktik asit bakterileri gibi organizmalardaki ATPaz, zorunlu hücre işlevlerini gerçekleştirecek proton motive gücü *üretmek* için tek yönlü çalışır.

İnhibitörler ve Ayırıcı (Uncoupler) Ajanlar

Elektron taşıma tepkimeleri ile ilgili çalışmalarda elektron akışını ya da oksidatif fosforilasyonu etkileyen belirli kimyasallar kullanılabilir. Bu tür kimyasallar iki gruba ayrılır: *inhibitörler* ve *ayırıcılar(uncouplers)*. İnhibitörler elektron akışını ve dolayısıyla proton motive gücün oluşumunu bloke eder. Bunlar arasında *a*-tipi sitokromlara sıkıca bağlanarak (Şekil 5.20), bunların işlevlerine engel olan *karbon monoksit* (CO) ve *siyanit* (CN^-) yer alır. Buna karşılık, ayırıcılar elektron aktarımını *etkilemeksizin* ATP sentezine engel olurlar. Bu grupta yer alan *dinitrofenol* ve *dikumarol* lipid içinde çözünen bileşiklerdir. Bu bileşikler zarda sızıntıya neden olarak, proton motive gücü ve bunun ATP sentezleme yeteneğini yok ederler. Proton motive gücün kaybı, ATP sentezini olanaksız hale getirir.

5.12 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Elektronların elektron taşıma zinciri boyunca taşınması sırasında protonlar zarın dışına doğru pompalanır ve sonuçta proton motive güç ortaya çıkar. Belli başlı elektron taşıyıcıları arasında, flavinler, kinonlar, sitokrom bc_1 kompleksi ve organizmaya bağlı olarak diğer sitokromlar yer almaktadır. Hücre ATPaz aktivitesi aracılığı ile ATP üretmek için proton motive gücü kullanır.

- Elektron taşıma tepkimeleri proton motive gücü nasıl meydana getirir?
- *P. denitrificans*'ın elektron taşıma zincirinde akan iki elektron ile dışarı pompalanan protonların sayısı arasındaki oran nedir? Zincirin hangi bölgesinde proton motive güç oluşmaktadır?
- Hücredeki hangi yapı proton motive gücü ATP'ye dönüştürür? Nasıl çalışır?

V SOLUNUMDA KARBON AKIŞI VE KATABOLİK ALTERNATİFLER

Buraya kadar, ATP molekülün solunum sürecinde nasıl elde edildiğine ilişkin kavramları öğrendik.

Şimdi artık karbon metabolizması ile ilgili kavramlar üzerinde duracak ve anaerobik solunum, fotosentez ve kemolitotrofi gibi enerji-üreten alternatif yolları kısaca gözden geçireceğiz.

5.13 Solunumda Karbon Akışı: Sitrik Asit Döngüsü

Glukoz respirasyonunun başlangıç basamakları glikoliz işlemindeki biyokimyasal basamakların aynısını içerir (Bkz. Şekil 5.14). Daha önce gördüğümüz gibi, glikolizdeki anahtar ara-ürün piruvat'dır. Piruvat molekülü fermentasyon sürecinde indirgenir ve fermentasyon son ürünlerine dönüştürülür (Şekil 5.14), solunum sırasında ise tamamen CO_2'ye oksitlenir. Piruvatın tümüyle CO_2'e oksitlendiği ana yol birçok organizmada yer alan *sitrik asit döngüsü*'dür (Şekil 5.22●).

Piruvat önce dekarboksilasyona uğrar ve bir molekül NADH ve koenzim A'ya bağlı olan asetil molekülünün oluşumuna yol açar (*asetil-CoA*, Bkz. Şekil 5.12). Asetil-CoA'nın asetil grubu dört karbonlu okzaloasetat ile birleşerek sitrik asit oluşumunu sağlar. Asetil-CoA'nın tioester bağındaki enerji (Şekil 5.12) bu sentezi gerçekleştirmek için kullanılır. Bu işlemi takiben hidrasyon, dekarboksilasyon ve oksidasyon tepkimeleri gerçekleşir ve iki molekül CO_2 daha açığa çıkar (Şekil 5.22). Sonuçta, okzaloasetat yeniden oluşturulur ve tekrar asetil alıcısı olarak işlev görerek döngüyü tamamlar.

CO_2'in Açığa Çıkması ve Elektron Taşınması İçin Yakıt

Döngüde oksitlenen her bir piruvat molekülü için, bir tanesi asetil-CoA oluşumu sırasında, bir tanesi izositratın dekarboksilasyonunda ve bir tanesi de α-ketoglutaratın dekarboksilasyonunda olmak üzere üç molekül CO_2 açığa çıkar (Şekil 5.22). Fermentasyonda olduğu gibi, sitrik asit döngüsündeki ara-ürünlerin oksidasyonu sırasında açığa çıkan elektronlar da ya NAD^+ ya da FAD koenzimlerini içeren enzimlere aktarılırlar. Ancak, NADH ve FAD'nin okside olma biçimleri açısından solunum ile fermentasyon birbirlerinden farklıdır. Fermentasyonda açığa çıkan elektronlar piruvatı indirgemek için kullanıldığı halde (Şekil 5.14), solunum sürecinde açığa çıkan elektronlar elektron taşıma zinciri aracılığıyla NADH'dan oksijene veya diğer son elektron alıcılarına aktarılırlar (Bkz. Kısım 5.12). Dolayısıyla, fermentasyonun aksine, solunumda bir *elektron alıcısının* bulunması nedeniyle glukoz tamamen CO_2'e oksitlenir ve oldukça yüksek enerji kazancı sağlanır (Şekil 5.22*b*). Alkolik ya da laktik asit fermentasyonunda her bir glukoz başına 2ATP üretilirken, solunum süreci sonunda bir glukoz molekülü başına toplam 38 ATP üretilir (Şekil 5.22).

Biyosentez ve Sitrik Asit Döngüsü

Sitrik asit döngüsü katabolizmada kilit bir rol oynamasının yanı sıra, biyosentetik açıdan da önemlidir. Bunun sebebi, gerek duyulduğunda biyosentetik amaçlar için alınıp kullanılabilecek önemli bazı ara-ürünlerin bu döngü sırasında sentezlenmesidir. Bu bağlamda özellikle önemli olanlar, birkaç amino asidin öncülleri olan α-ketoglutarat ve okzaloasetat (bakınız Kısım 5.16), sitokromlar, klorofil ve diğer tetrapirol bileşiklerinin porfirin halkalarını oluşturmak için gerekli olan süksinil-CoA'dır (Bkz. Şekil 5.16). Okzaloasetat aynı zamanda glukoz öncülü olan fosfoenolpiruvata dönüştürülebildiği için de önemlidir (Bkz. Şekil 5.25). Bunlara ek olarak, asetil-CoA yağ asidi biyosentezi için gerekli olan başlangıç materyali olarak görev yapar (Bkz. Şekil 5.17). Dolayısıyla, sitrik asit döngüsü hücrede iki ana rol üstlenir: *biyoenerjetik* ve *biyosentetik*. Bazı ara-ürünler çeşitli biyosentetik amaçlar için alınıp kullanılabildiğinden, glikolitik yol için de hemen hemen aynı şey söylenebilir (Bkz. Şekil 5.26).

5.13 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Fermentasyona kıyasla solunumda, organik madde tümüyle okside olur ve çok daha fazla enerji açığa çıkar. Sitrik asit döngüsü organik maddelerin solunumunda önemli görevlere sahiptir.

- Sitrik asit döngüsünde *harcanan her bir asetat* molekülü için kaç molekül CO_2 ve elektron çifti açığa çıkmaktadır?
- Sitrik asit döngüsü ve glikoliz hangi iki ana görev açısından ortaklık taşırlar?

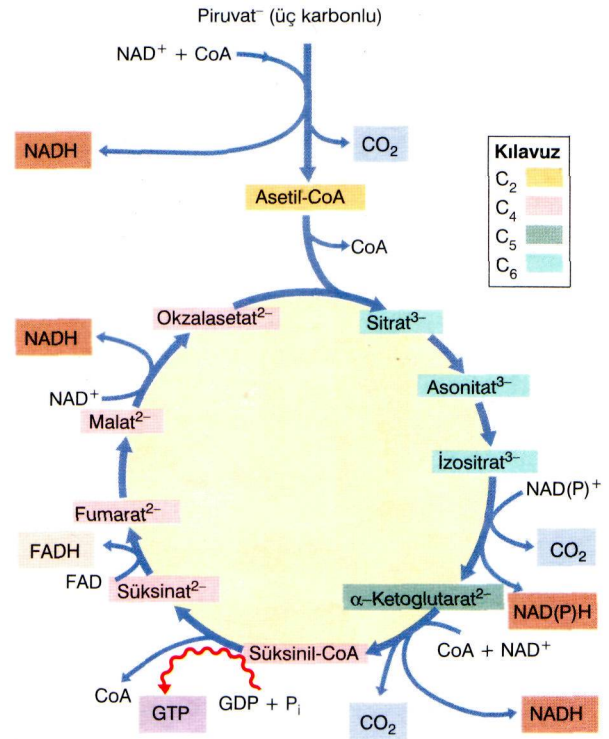
5.14 Katabolik Alternatifler

Bölüm 2'de vurgulandığı gibi, mikrobiyal çeşitliliğin can damarı *metabolik çeşitlilik*'tir. Özellikle önemli olan da, ATP üretmek için mikroorganizmaların evrimleştirdiği çeşitli stratejilerdir. Bu bölümde şu ana kadar sadece kemoorganotrofların tepkimelerinden söz ettik. Şimdi kısaca enerji kaynağı olarak organik maddeleri kullanan bazı alternatiflerden, elektron akışı ve karbon metabolizmasını da vurgulayarak bahsedeceğiz.

Şekil 5.23●, fermentasyon ve aerobik solunum dışında hücrelerin enerji üretebilecekleri alternatif mekanizmaları özetlemektedir. Bu alternatif enerji üretme yolları *anaerobik solunum*, *kemolitotrofi* ve *fototrofi*'yi içermektedir.

Anaerobik Solunum

Solunumla enerji üretiminin bir başka alternatifi, oksijenden *başka* elektron alıcılarının kullanıldığı solunumdur. Bu süreç **anaerobik solunum** olarak adlandırılır. Anaerobik solunumda kullanılan elektron alıcılarından bazıları nitrat (NO_3^-), ferrik demir (Fe^{3+}), sülfat (SO_4^{2-}), karbonat (CO_3^{2-}), ve bazı organik bileşiklerdir. Elektron kulesindeki pozisyonlarından dolayı, oksijen yerine bu elektron alıcılarının kullanılması halinde, daha az enerji açığa çıkar (bu alıcıların hiç biri O_2/H_2O çiftinin sahip olduğu kadar yüksek pozitif $E^{o'}$ değerine sahip değildir) (Bkz. Şekil 5.9).



(a)

Aerobik solunum için enerjetik denklik tablosu

(1) **Glikoliz:** Glukoz + $2NAD^+$ + 2 ATP → 2 Pirüvat⁻ + 4 ATP + 2 NADH
+ 4 ADP
Sitrik Asit Döngüsü'ne gider
Kompleks I'e gider

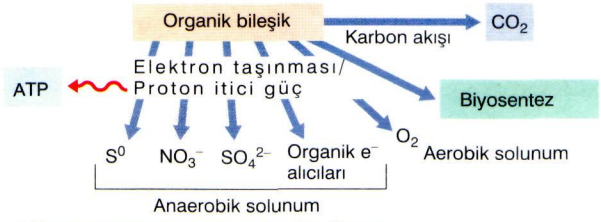
(a) Substrat-düzeyinde fosforilasyon
2 ADP + Pi → 2 ATP (× 2)
(b) Oksidatif fosforilasyon
2 NADH → 6 ATP
8 ATP

(2) **SAD:** Pirüvat⁻ + $4NAD^+$ + GDP + FAD → 3 CO_2 + 4 NADH + FADH + GTP
Kompleks I'e gider
Kompleks II'ye gider

(a) Oksidatif fosforilasyon
1 GDP + Pi → 1 GTP
1 GTP + 1 ADP → 1 ATP + 1 GDP
(b) Oksidatif fosforilasyon
4 NADH → 12 ATP
1 FADH → 2 ATP
15 ATP (× 2)

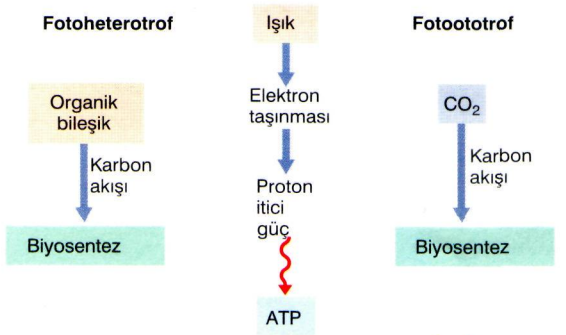
(3) **Özet: Glikoz SAD → 38 ATP / glukoz**

● **Şekil 5.22 Sitrik Asit Döngüsü (SAD).** (a) Sitrik asit döngüsü piruvat'dan oluşan iki karbonlu asetil-CoA ile dört karbonlu okzaloasetatın altı karbonlu sitrat oluşturmak üzere birleşmesi ile başlar. Oksidasyon ve transformasyon silsileleri sayesinde, altı karbonlu bu bileşik sonuçta bir diğer asetil-CoA molekülü ile birleşerek yeniden döngüye giren dört karbonlu okzaloasetata dönüştürülür. (b) Sitrik asit döngüsünde açığa çıkan CO_2 ve elektron taşıma zinciri için kullanılan yakıtın (NADH/FADH) toplam denkliği. NADH ve FADH Şekil 5.20'de verilen elektron taşıma zinciri kompleksini besler.



(a) **Kemoorganotrofik metabolizma**

(b) **Kemolitotrofik metabolizma**



(c) **Fototrofik metabolizma**

● **Şekil 5.23 Enerjetik ve karbon akışı.** (a) Kemoorganotrofik solunum metabolizması, (b) kemolitotrofik metabolizma, ve (c) fototrofik metabolizma. Fototrofik metabolizmasında biyosentez için gereken karbonun, CO_2 (fotoototrofi) veya organik bileşiklerden (fotoheterotrofi) ne şekilde elde edildiğine dikkat ediniz. Her bir basamakta proton motive güç oluşumuna sebep olan elektron taşınmasının önemini de dikkat ediniz.

Alternatif elektron alıcıları, oksijenin olmadığı ortamlarda mikroorganizmaların solunum yapmasına olanak sağlarlar. Oksijenin su içerisindeki çözünürlüğü oldukça düşük olduğu ve elektron alıcısı olarak O_2'e oldukça fazla talep olduğu için anaerobik solunum ekolojik olarak oldukça önemlidir. Anaerobik solunumu daha detaylı bir biçimde Kısım 17.13 de tartışacağız.

Kemolitotrofi

Enerji üretmenin ikinci modu *organik* değil *inorganik bileşikleri* kullanmayı gerektirir. Elektron vericisi olarak inorganik kimyasalları kullanabilen organizmalar **kemolitotroflar** olarak isimlendirilmektedir. Bu tip metabolizmada görev alan elektron vericileri arasında hidrojen sülfit (H_2S), hidrojen gazı (H_2), ferrus demir (Fe^{+2}) ve amonyak (NH_3) yer alır.

Kemolitotrof metabolizma tipik olarak aerobiktir; fakat organik elektron vericisinin değil inorganik elektron vericisinin oksidasyonu ile başlar (Şekil 5.23). Kemolitotroflar, kemoorganotroflarınkine benzer elektron taşıma komplekslerine sahip olup, elektron akışından aynı şekilde proton motive güç oluştururlar. Kemolitotrof ve kemoorganotroflar arasındaki en önemli fark biyosentez için gereken karbon *kaynaklarıdır*. Kemoorganotroflar karbon kaynağı olarak organik maddeleri (glukoz, asetat, vb) kullanırlar. Bunun tersine, kemolitotroflar karbon kaynağı olarak karbon dioksit (CO_2) kullanırlar, ve bu yüzden **ototrof**turlar. Birçok kemolitotrofi çeşidini Bölüm 17'de tartışacağız.

Fototrofi

Çok sayıda mikroorganizma *fototrof* olup, fotosentez için enerji kaynağı olarak ışığı kullanır. Enerji kaynağı olarak ışık kullanan mekanizmalar çok özel ve karmaşık olmakla birlikte, sonuçta **fotofosforilasyon** olarak isimlendirilen işlemle gerçekleşecek olan ATP sentezinde kullanılabilecek proton motive güç oluşturulur. Fototrofların çoğu ATP şeklinde korunan enerjiyi karbon dioksit asimilasyonunda kullanır. Karbon dioksit biyosentez için karbon kaynağı görevi yapar. Bu gruptaki organizmalar **fotoototroflar** olarak adlandırılır. Bazı fototroflar ise karbon kaynağı olarak organik bileşikleri, enerji kaynağı olarak da ışığı kullanırlar. Bu gruptaki organizmalar **fotoheterotrof**lardır (Şekil 5.23).

Bölüm 2'de bahsetmiş olduğumuz gibi mikroorganizmalarda birbirine benzeyen iki farklı fotosentez tipi vardır: oksijenli ve oksijensiz. Siyanobakteriler ve bunların akrabaları tarafından gerçekleştirilen *oksijenli fotosentez* yüksek bitkilerdekine benzerlik gösterir ve O_2 oluşumuna sebep olur. *Oksijensiz fotosentez* ise mor ve yeşil bakterilerde bulunan ve O_2 üretilmeyen oldukça basit bir formdur. Bölüm 17'de göreceğimiz gibi, her iki fotosentez formu biyoenerjetik açıdan paralellik taşır.

Biyoenerjetik Stratejileri Değiştirmede Proton Motive Gücün Önemi

Enerji metabolizması söz konusu olduğunda, mikroorganizmaların biyoenerjetik stratejilerinde inanılmaz bir çeşitlilik olduğu artık açıklık kazanmış olmalı. Binlerce organik bileşik, pek çok inorganik bileşik ve ışık çeşitli organizmalar tarafından enerji kaynağı olarak kullanılabilir. Bununla beraber, substrat-düzeyinde fosforilasyonun meydana geldiği fermentasyon hariç, solunum ve fotosentezdeki metabolik çeşitlilik ortak bir tema etrafında dönmektedir ki bu tema *proton motive gücün yaratılması*'dır.

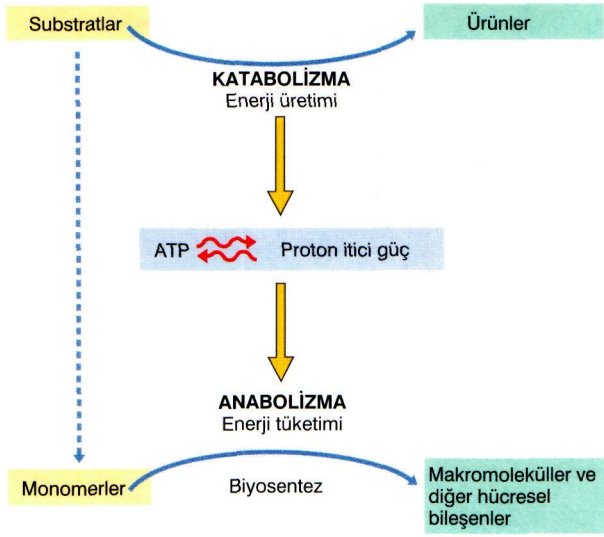
Elektronlar ister organik ya da inorganik bileşiklerin oksidasyonundan, isterse fototrofik süreçlerden gelsin, zar aracılığı ile gerçekleşen biyoenerjetik proseslerde bu elektronların tümü zara-bağlı elektron taşıma zincirinden geçerler. Bu arada, proton motive güç oluştururlar (Şekil 5.20). Bütün bu durumlarda enerjinin korunması ATPaz aktivitesi aracılığıyla gerçekleşir (Şekil 5.21). Kemoorganotrof ve kemolitotrof organizmalarda oksidatif fosforilas-

yon, fototroflarda ise fotofosforilasyon söz konusudur (Şekil 5.23).

5.14 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Enerji üretiminde O_2 dışındaki elektron alıcıları da görev yapabilir. Oksijensiz koşullar altındaki bu süreç, anaerobik solunum olarak isimlendirilmektedir. Kemolitotroflar elektron vericisi olarak inorganik maddeleri kullanırken, fototroflar proton motive gücü oluşturmak için ışığı kullanırlar. Proton motive güç solunum ve fotosentezin tüm formlarında gereklidir.

- Kemoorganotroflar ile kemolitotroflar arasında elektron vericileri bakımından nasıl bir farklılık vardır?
- Ototrof organizmalar için karbon kaynağı nedir?
- Fotoototroflar ile fotoheterotroflar arasında ne gibi farklılıklar vardır?



● **Şekil 5.23 Anabolizma ile katabolizmayı entegre etmede ATP ve proton motive gücün anahtar rol oynamasını gösteren şema.** Monomerler ya çevreden hazır alınır ya da glikoliziz veya sitrik asit döngüsü gibi katabolik yollardan gelir. Pek çok durumda, monomerlerin ya katabolik araürünlerden ya da doğada bulunan besinlerden sentezlenmesi gerekmektedir. Bu biyosentezler anabolik tepkimelerdir.

VI BİYOSENTEZ

Bu bölümü monomer biyosentezini özetleyerek kapatıyoruz. Monomerler polimerlerin yapıtaşlarıdır ve kültür ortamında ya da bu yapıtaşlarının bulunmadığı doğada gelişen organizmalar tarafından basit bileşenlerden sentezlenmek zorundadırlar. Bu sürece **anabolizma** adı verilir. Bu süreçlerin ayrıntılarının mikrobiyoloji ders kitabının kapsamı dışında olduğunu ve biyokimya ders kitaplarında bulunabileceğini göz önünde bulundurarak, burada sadece anabolizma ile ilgili genel açıklamalar yapacağız.

Anabolizma için gerekli olan enerji ATP'den ya da proton motive güçten sağlanır (Şekil 5.24●). Katabolik tepkimeler sırasında açığa çıkan ve ATP ya da proton motive güç şeklinde korunan enerji, monomer sentezi ve makromolekülleri oluşturmak üzere monomerlerin polimerizasyonu sırasında kolayca tüketilebilir. Hücredeki enerjinin büyük kısmı protein ve nükleik asit sentezi için harcanır. Lipid ve polisakkarit sentezi için nispeten az enerji gerekir. Her ne kadar polimer biyosentezlerinin çoğu ATP ya da buna benzer fosforlanmış bileşikler tarafından yürütülse de, her zaman akılda tutulması gereken şey, hücreye yeterli kaynaklar sağlandığında fermentasyon veya proton motive güç yaratan solunum tepkimeleri ile hızla yeniden ATP üretebildiğidir. Dolayısıyla, ATP ve proton motive güç, hücresel enerjinin birbirine dönüşebilen formlarıdır.

5.15 Şeker ve Polisakkarit Biyosentezi

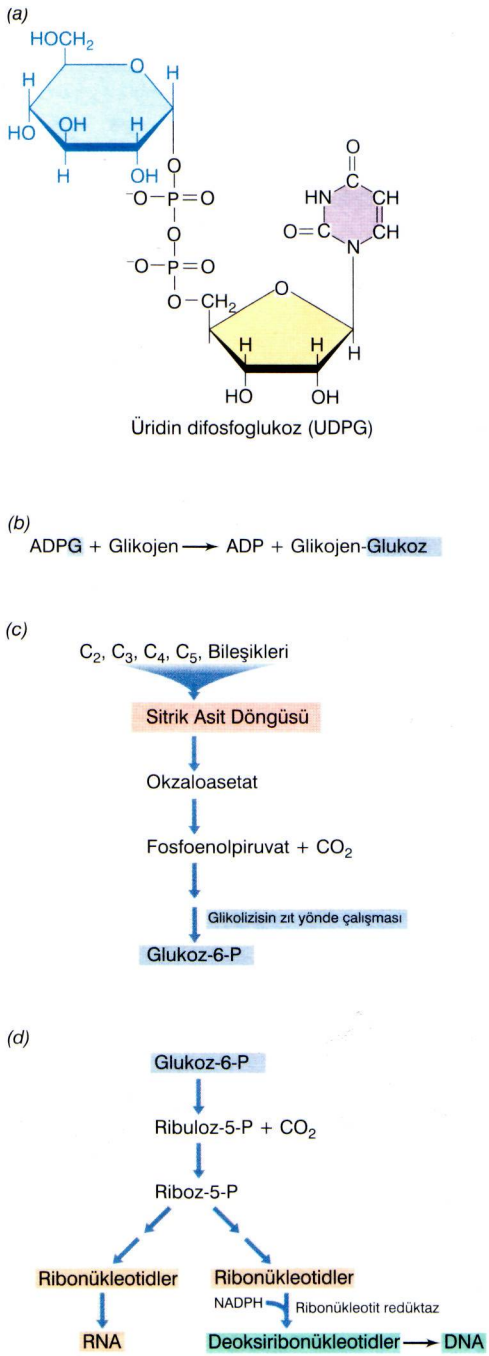
Polisakkaritler pek çok organizmada hücre duvarının temel bileşenidir. *Bacteria*'nın peptidoglikan hücre duvarı polisakkarit omurgaya sahiptir (Kısım 4.8). Buna ek olarak, hücreler çoğu kez *glikojen* ya da *nişasta* şeklinde karbon ve enerji rezervi yaparlar (Kısım 3.3 ve 4.13). Bu polisakkaritlerin monomerik birimleri *heksoz* olarak isimlendirilen altı-karbonlu şekerler ve özellikle de glukoz veya glukoz türevleridir. Heksozlara ek olarak, *pentoz* olarak isimlendirilen beş-karbonlu şekerler de hücrelerde oldukça yaygındır. Bunların en önemlileri, RNA'daki riboz ve DNA'daki deoksiribozdur.

Prokaryotlarda, polisakkaritler ya *üridin difosfoglukoz* (UDPG, Şekil 5.25*a*●) ya da *adenozin difosfoglukoz*'dan (ADPG) sentezlenir. Bunların her ikisi de glukozun *aktive olmuş* formlarıdır. ADPG glikojen sentezinin öncülüdür. UDPG ise hücredeki diğer polisakkaritlerin sentezi için gereken çeşitli glukoz türevlerinin öncülüdür. Bu glukoz türevleri arasında peptidoglikan tabakasında yer alan *N*-asetil glukozamin ve *N*-asetilmuramik asit ve gram negatiflerin dış zarındaki lipopolisakkarit bileşen vardır (Kısım 4.8 ve 4.9).

Hücre glukoz gibi bir heksoz ortamında gelişirken, polisakkarit sentezi için glukoz sağlaması problem değildir. Ancak hücre farklı karbon kaynaklarının olduğu bir koşulda gelişiyorsa, glukozun sentezlenmesi gerekmektedir. **Glukoneogenezis** olarak adlandırılan bu süreç başlangıç bileşiği olarak glikoliz sırasında oluşan bir ara-ürün olan *fosfoenolpiruvat*'ı kullanır (Bkz. Şekil 5.14). Fosfoenolpiruvat, sitrik asit döngüsü ara-ürünü olan okzaloasetat'dan sentezlenebilir. Glukoneogenezis sürecinin genel açıklaması Şekil 5.25*c*'de gösterilmiştir.

Pentoz Biyosentezi

Pentozlar hekzosların CO_2 halinde bir karbon atomu kaybetmesiyle oluşurlar (Şekil 5.24*d*). Nükleik asit sentezi için gerekli pentoz şekerler olan riboz ve deoksiriboz Şekil 5.25*d*'de gösterildiği gibi oluşurlar. Önemli bir enzim olan *ribonükleotit redüktaz*, riboz halkasındaki 2' karbonu redükleyerek, ribozu



● **Şekil 5.25 Şeker metabolizması.** (a) Polisakkaritler UDPG gibi hekzosların aktive edilmiş formlarından sentezlenmektedir. Burada glukoz mavi boyalı alanlarda gösterilmiştir. UDPG, esas olarak *N*-asetilglukozamin gibi glukoz türevlerinin biyosentezinde gereklidir. (b) Glikojen ise, glukoz ünitelerinin ardı ardına eklenmesiyle adenozin-fosfoglukoz'dan sentezlenmektedir. (c) Glukoneogenezis. Glukoz molekülüne ihtiyaç duyulduğunda diğer karbon kaynaklarından glukoz sentezlenebilir ve bu amaçla bazı glikoliz basamakları ters yönde çalışır. (d) Nükleik asit sentezi için gerekli olan pentoz şekerleri glukoz-6-fosfat gibi heksoz şekerlerinin dekarboksilasyonu ile meydana gelmektedir. DNA öncülerinin, *ribonükleotit redüktaz* enzimi ile RNA öncülerinden nasıl oluştuğuna dikkat ediniz.

deoksiriboza dönüştürür. İlginç bir şekilde, bu tepkime nükleotitlerin sentezinden önce değil, *sonra* gerçekleşir. Böylece, *ribo*nükleotitler sentezlenir ve her tip ribonükleotit molekülünden bir kısmı daha sonra DNA öncülü olarak kullanılmak üzere *deoksiribo*nükleotitlere indirgenir.

5.15 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Polisakkaritler hücrenin önemli yapısal bileşenleri olup bunlar monomerlerinin aktif formlarından sentezlenir. Glukoneogenezis, şeker olmayan öncüllerden glukoz üretimidir.

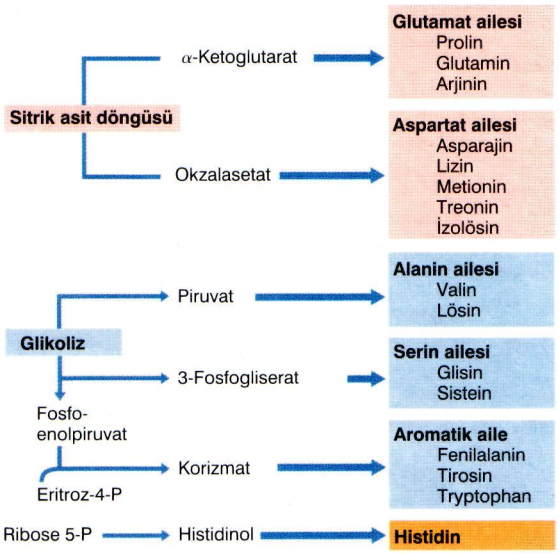
◆ Glukozun hangi formu glikojen oluşturmak için kullanılır?

5.16 Amino Asit ve Nükleotit Biyosentezi

Proteinlerin monomerleri amino asitler, nükleik asitlerin monomerik birleşenleri ise nükleotitlerdir. Bunların biyosentezi, her basamağı ayrı bir enzim tarafından katalizlenen, çok basamaklı uzun yollar aracılığı ile gerçekleşir. Bu kısımda, biyosentetik yola başlamak için gerekli olan karbon iskeletlerini tanımlayarak, bu moleküllerin biyosentezlerine giriş yapıyoruz.

Proteinlerin Monomerleri: Amino Asitler

Amino asitlerinin çoğunu ya da tamamını çevreden hazır olarak temin edemeyen organizmalar bunları diğer kaynaklardan sentezlemek zorundadırlar. Amino asitlerin karbon iskeletleri hemen hemen tümüyle glikoliz ya da sitrik asit döngüsü ara-ürünlerinden kaynaklanır (Şekil 5.26●).



● **Şekil 5.26 Amino asit ailesi.** Çoğu amino asidin karbon iskeletinin ya sitrik asit döngüsünden ya da glikoliz'den nasıl geldiğine dikkat ediniz. Ailedeki çeşitli amino asitlerin sentezi başlangıç amino asitten başlayacak şekilde enzimatik olarak katalizlenen çok sayıda farklı basamak gerektirmektedir (başlangıç amino asitleri koyu renkle gösterilmiştir).

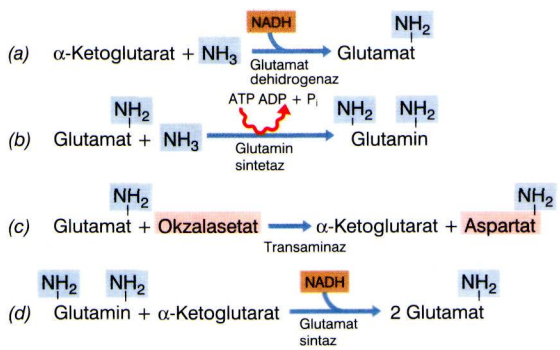
Amino asitlerin *amino grubu* tipik olarak çevredeki bazı inorganik azot kaynaklarından (örneğin amonyak=NH_3 gibi) sağlanmaktadır. Amonyağın moleküle katılması çoğu kez *glutamat dehidrogenaz* ve *glutamin sentetaz* enzimleri tarafından katalizlenir ve sırasıyla glutamat ve glutamin amino asitleri oluşur (Şekil 5.27*a*,*b*●).

Amonyağın molekül içine katılması, diğer azotlu bileşiklerin sentezinde kullanılmasını mümkün kılar. Örneğin, α-ketoglutarat ve aspartat üreten *transaminaz* tepkimesinde glutamatın amino grubu okzaloasetat'a verilir (Şekil 5.27*c*). Alternatif olarak, *aminotransferaz* tepkimesinde iki molekül glutamat oluşturmak üzere glutamin ile α-ketoglutarat tepkimeye girer (Şekil 5.27*d*). Bu tip tepkimelerin sonucu, amonyağın çeşitli karbon iskeletleri arasında gidip gelmesidir. Bu karbon iskeletleri daha sonra, proteinler için gerekli olan 21 amino asidin (Şekil 3.12) tamamını oluşturacak olan biyosentetik tepkimelere katılırlar .

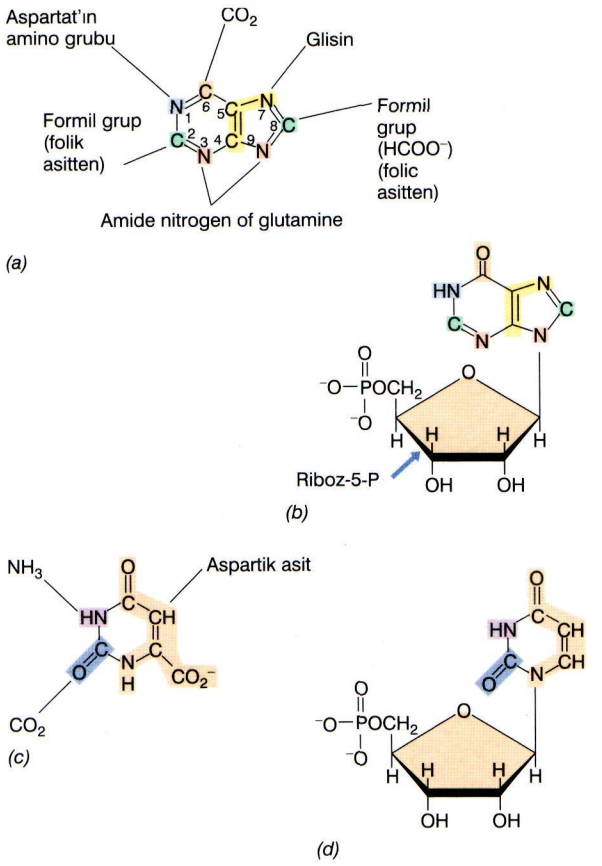
Nükleik Asitlerin Monomerleri: Nükleotitler

Pürin ve pirimidin biyosentezi oldukça karmaşıktır. Pürinler, CO_2 de dahil olmak üzere, birkaç farklı karbon ve azot kaynağından tek tek sağlanan atomların kullanılmasıyla inşa edilirler. (Şekil 5.28*a*●). Anahtar rol oynayan bir pürin olan *inosinik asit* (Şekil 5.28*b*) pürin bazları olan *adenin* ve *guanin*'in öncülüdür (Şekil 3.9). Bu bazlar sentezlendikten sonra kendilerine özgü pentoz şekerlere bağlanırlar ve trifosfat formunda DNA ya da RNA yapısına katılmaya hazır hale gelirler (Kısım 7.5-7.11).

Pürin halkası gibi, pirimidin halkası da çeşitli kaynaklardan kurulur. Bu sentezin öncül bileşiği bir pirimidin olan *üridilat*'tır. Pirimidin bazları olan *timin*, *sitozin* ve *urasil* (Şekil 3.9) bu bileşikten oluşturulur (Şekil 5.28*d*).



● **Şekil 5.27 Bakterilerde amonyak inkorporasyonu.** Serbest amonyakla ve tüm amino asitlerin amino grupları mavi kutular içinde gösterilmiştir. Bakterilerde NH_3 asimilasyonundaki 2 temel yoldan birisi (a) glutamat dehidrogenaz, ikincisi ise (b) glutamin sintetaz enzimleri tarafından katalize edilenlerdir. (c) Transaminaz tepkimeleri amino asilerdeki amino grubunu bir organik aside aktarır. (d) Glutamat sintaz enzimi tarafından katalizlenen tepkimede bir glutamin ve bir α-ketoglutarat'dan iki glutamat meydana gelir.



● **Şekil 5.28 Pürin ve pirimidin biyosentezi.** (a) Pürin iskeletinin öncülleri. (b) Tüm pürin nükleotitlerinin öncülü olan inosinik asit. (c) Pirimidin iskeletinin öncülü olan orotik asit. (d) tüm pirimidin nükleotitlerinin öncülü olan üridilat. Orotat'ın dekarboksilasyonu ve riboz-5- fosfat eklenmesini takiben üridilat oluşur.

5.16 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Amino asitler katabolizma sırasında oluşturulan karbon iskeletlerinden oluşturulurken, nükleotitler çeşitli kaynaklardan gelen karbonların kullanılmasıyla sentezlenirler.

- Amino asitlerin amino grubunu oluşturmak için genelde kullanılan azot formu nedir?
- Hangi bazlar *pürin*, hangi bazlar *pirimidin*'dir.

5.17 Yağ Asitleri ve Lipidlerin Biyosentezi

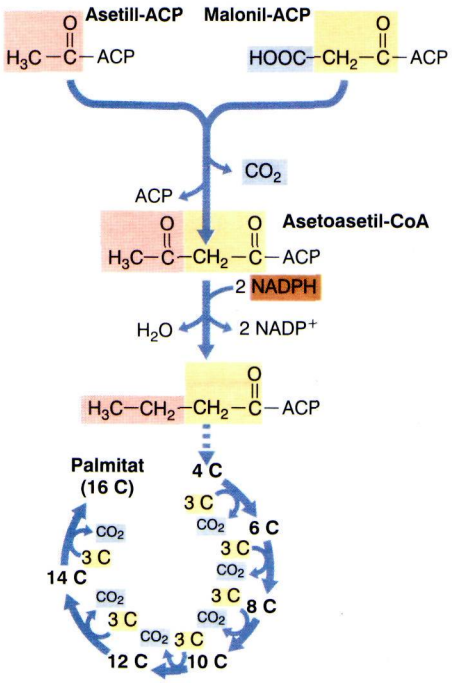
Her ne kadar *Archaea* lipidleri yağ asidi olmayan hidrofobik bileşenler içerse de, *Bacteria* ve *Eukarya* türlerindeki lipidler yağ asitleri içerir (Kısım 4.5). Lipidler zarın temel yapısal bileşenleri olduklarından hücreler için büyük önem taşırlar. Lipidler aynı zamanda karbon ve enerji rezervidir. Diğer lipidler hücre içinde ya da yüzeyinde ve özellikle gram-negatif bakterilerin lipopolisakkarit tabakasında işlev görürler (Kısım 4.9). Hücreler bir kısmı

sadece özel koşullar altında üretilen, ya da sadece belirli hücre yapılarında özel roller üstlenen çok farklı tiplerde lipid sentezleyebilirler. Dolayısıyla, yağ asidi biyosentezi hücrelerin çok önemli tepkime serilerinden biridir.

Yağ Asidi Biyosentezi

Yağ asitlerinin biyosentezi, *açil (acyl) taşıyıcı protein* (ACP) olarak adlandırılan küçük bir proteinin yardımıyla her seferde iki karbon atomunun zincire eklenmesi ile gerçekleşir. Sentez sırasında, uzayan yağ asidi zinciri ACP'ye bağlı kalır ve son uzunluğuna ulaştığında ondan ayrılır (Şekil 5.29●; Şekil 3.7). İlginç olan nokta, yağ asidi zincirine her seferde *iki* karbon eklenmesine rağmen, bu iki karbonun, *malonat* adı verilen ve ACP'ye bağlanarak malonil-ACP oluşturan *üç* karbonlu bir bileşikten sağlanmasıdır. Sentez sırasında harcanan her malonil köküne karşılık, bir molekül CO_2 açığa çıkar (Şekil 5.29).

Hücrelerin yağ asidi içeriği organizmanın türüne ve gelişme sıcaklığına bağlı olarak değişiklik gösterir (düşük sıcaklıklarda daha kısa yağ asitleri sentezlenirken, yüksek sıcaklıklarda daha uzun yağ asitlerinin sentezi tercih edilir). Bakterilerdeki lipidlerde en yaygın olarak bulunan yağ asitleri C_{12}-C_{20} tipindedir.



● **Şekil 5.29 Yağ asitlerinin biyosentezi.** Palmitat'ın (C_{16} yağ asidi) biyosentezi (Şekil 3.7). Asetil-ACP ile malonil-ACP'nin kondensasyonu sonucunda asetoasetil-CoA oluşur. Birbiri ardına eklenen her bir asetil birimi malonil-ACP'den gelmektedir.

Çift-karbon sayısına sahip doymuş yağ asitlerine ek olarak, doymamış, dallanmış ya da tek-karbon sayısına sahip yağ asitleri de vardır. *Doymamış* yağ asitleri molekülün uzun hidrofobik kısmında bir veya daha fazla çift bağ içerebilirler. Çift bağların sayısı ve zincirdeki konumları genelde organizma türüne ya da grubuna özgüldür. Çift bağlar tipik olarak doymuş yağ asidinin desatürasyonu ile eklenir. *Dallanmış zincirli* yağ asitlerinin sentezi, dallanmış yağ asidi içeren bir başlangıç molekülünün kullanılmasıyla gerçekleşirken, *tek-karbon-sayılı* yağ asidi zincirinin başlangıç molekülü propiyonil (C_3) grubu içerir.

Lipidler

Bacteria ve *Eukarya*'daki lipid oluşumu, yağ asitlerinin gliserol molekülüne eklenmesi ile tamamlanır. Basit trigliseritlerde, gliserolün üç karbonu da yağ asitleri ile esterleşmiştir. Kompleks lipidlerde ise gliserolün bir karbonu fosfat, etanolamin, şeker ya da diğer polar bileşiklere bağlanır (Şekil 3.7). *Archaea* lipidleri yan zincir olarak yağ asitleri yerine fitanil yan zincirlerine sahiptir (Kısım 4.5). Bununla birlikte, *Bacteria* ve *Eukarya*'da olduğu gibi, *Archaea* lipidlerinin gliserol omurgasındaki üçüncü karbon tipik olarak polar bir grup içermektedir.

Lipidler, mikrobiyal ekoloji çalışmalarında biyolojik markır olarak kullanılırlar. Örneğin, ester-bağlı lipidler *Archaea* türlerinde bulundukları halde, *Bacteria* ya da *Eukarya*'da bulunmazlar. Belirli organizma gruplarına özgü başka lipidler de vardır. Lipidlerde gözlenen bu çeşitlilik doğal örneklerdeki organizma gruplarının tanımlanmasında kullanılmaktadır (Kısım 11.10). Ölmüş organizmalardaki lipidler diğer hücresel makromoleküllere kıyasla daha kalıcıdırlar. Bu özellik ve özgül lipidlerin varlığı, eski zamanlardan kalma materyallerdeki bakteriyal bileşimin tayin edilmesinde lipid analizlerini ideal bir yöntem haline getirmektedir. Örneğin, göl ya da denizlerdeki sedimentlerden alınan örnekler üzerinde yapılan lipid analizleri, her sediment katmanındaki farklı mikroorganizmaların çeşit ve miktarlarını ortaya çıkarmaya yardımcı olur. Her bir katmanın yaşı farklı olduğundan ve kolayca yaş tayini yapılabildiğinden, analiz sonucunda elde edilen lipid profili, zaman içinde bu habitatta yaşamış olan organizma tiplerine ait bilgi sağlar.

5.17 Kavramların Gözden Geçirilmesi

Yağ asidi zincirleri, bir seferde iki karbon eklenmesiyle sentezlenir ve gliserole bağlanarak lipidleri oluştururlar.

◆ Yağ asidi sentezinde, yağ asitlerine bir seferde *iki* karbon eklendiği halde, bu karbonları veren molekül *üç* karbon atomu içerir. Bunun nedenini açıklayınız.

DEĞERLENDİRME SORULARI

1. *Karbon* ve *azot* makrobesin olarak kabul edilirken neden *kobalt* mikrobesindir (Kısım 5.1)?
2. *Siderofor* nedir ve neden gereklidir (Kısım 5.1)?
3. Aşağıdaki besi yeri neden kimyasal olarak tanımlanmış bir besi yeri olarak *düşünülemez* : glukoz, 5 gram (g); NH4Cl, 1g; KH_2PO_4, 1g; $MgSO_4$, 0.3 g; maya özütü, 5g; distile su, 1 litre (Kısım 5.2)?
4. Aseptik teknik nedir ve neden gereklidir (Kısım 5.3)?
5. Glukoz + 6 $O_2 \rightarrow$ 6 CO_2 + 6 H_2O tepkimesi için $\Delta G'^0$ değerini nasıl hesaplarsınız. Size bu tepkimenin oldukça *ekzergonik* olduğu söyleniyorsa, bu tepkimenin $\Delta G'^0$ değerinin işaretinin ne olacağını (negatif ya da pozitif) beklersiniz (Kısım 5.4)?
6. $\Delta G'^0$, ΔG ve G_f^0 değerleri arasındaki farkı belirtiniz (Kısım 5.4).
7. Hücreler neden enzimleri gereksinir (Kısım 5.5)?
8. *Koenzim* ile *prostetik grup* arasındaki farkı belirtiniz (Kısım 5.5).
9. Aşağıda bir seri eşlenik elektron vericisi ve elektron alıcısı (verici/alıcı şeklinde yazılmış olarak) verilmiştir. Şekil 5.9'da verilen bilgileri kullanarak bunları en çok enerji-verenden en az enerji-verene doğru sıralayınız. H_2/Fe^{+3}, H_2S/O_2, metanol/NO_3^- (NO_2^- oluşacak), H_2/O_2, Fe^{+2}/O_2, NO_2^-/Fe^{+3}, H_2S/NO_3^- (Kısım 6.9).
10. NAD^+/NADH çiftinin redüksiyon potansiyeli nedir (Kısım 5.7)?
11. Asetil fosfat enerjice zengin bir bileşik olarak kabul edildiği halde glukoz 6-fosfat enerji açısından fakir bir bileşiktir.Neden (Kısım 5.8)?
12. Fermentasyon ve solunumda ATP nasıl elde edilir (Kısım 5.9)?
13. Glikolizin hangi basamağında NADH *üretilir*? NADH hangi basamakta *kullanılır* (Kısım 5.10)?
14. Proton motive güç terimi ne anlama gelir ve bu kavram biyolojide neden bu denli önemlidir (Kısım 5.11 ve 5.12)?
15. ATPaz enzimindeki rotasyonal enerji ATP üretmek için nasıl kullanılır (Kısım 5.12)?
16. Dinitrofenol ve siyanidin ikisi de hücresel zehir olmakla birlikte etki mekanizmaları oldukça farklıdır. Bu iki kimyasalın etki mekanizmasını karşılaştırıp farklılıklarını belirtiniz (Kısım 5.12).
17. Fermentasyon ve solunum süreçlerinin enerji denkliklerini baştan sona inceleyerek, ATP sentez bölgelerini belirtiniz. Organizmalar glukoz içeren ortamda aerobik koşullar altında üretildiğinde, glukoz içeren ortamda fermentasyon neticesinde elde ettiğinin 20 katından fazla ATP elde etmektedir. Bu farkı tek bir ile cümle açıklayınız (Kısım 5.13).
18. Sitrik asit döngüsünün hücrede iki ana göreve sahip olma nedeni nedir (Kısım 5.13)?
19. *Escherichia coli* ve *Aciditiobacillus thioparus* (kükürt kemolitotrofu) arasında kullandıkları elektron vericisi ve karbon kaynakları açısından ne gibi farklar vardır (Kısım 5.14) ?
20. Şeker ve amino asit biyosentezi için karbon iskeleti sağlayan iki katabolik yol nelerdir (Kısım 5.15 ve 5.16)?
21. Palmitat (C_{16} düz zincirli doymuş yağ asidi) gibi bir yağ asidinin hücrede sentezlenme prosesini açıklayınız (Kısım 5.17).

UYGULAMA SORULARI

1. Karbon ve enerji kaynağı olarak asetat içeren bir besi yerinde aerobik koşullarda gelişebilen bir organizma için tanımlanmış bir kültür ortamı dizayn edin. Organizmanın ihtiyaç duyduğu tüm besinlerin doğru oranlarda olduğundan emin olunuz.
2. *Desulfovibrio* elektron vericisi olarak H_2, elektron alıcısı olarak ise SO_4^{2-} (H_2S'e indirgenen) içeren bir ortamda anaerobik olarak üreyebilir. Bu bilgiye ve Tablo A1.2'de (Ek 1) verilen verilere dayanarak, aşağıdaki bileşenlerden hangisinin bu organizmanın elektron taşıma zincirinde *yer alamayacağını* ve bunun nedenini açıklayınız: sitokrom *c*, ubikinon, sitokrom c_3, sitokrom aa_3, ferredoksin.
3. Tablo A1.2'deki verileri tekrar kullanarak, aerobik koşullarda üreyen ve aşağıda verilen elektron taşıyıcılarını oluşturan bir organizmanın zarında bu elektron taşıyıcılarının sırasını belirleyiniz: ubikinon, sitokrom aa_3, sitokrom *b*, NADH, sitokrom *c*, FAD.
4. Aşağıdaki gözlemleri açıklayınız: glukoz molekülünü fermente eden *Escherichia coli* hücreleri kültür ortamına NO_3^- eklendiği zaman hızlı gelişmekte (NO_2^- üretmekte), daha sonra kültür ortamı çok iyi havalandırıldığında daha da hızlı üremekte (ve NO_2^- üretimi durmakta).